



La spectroscopie Raman pour la lutte contre la contrefaçon et pour la sécurisation de la filière vin

Coralie Martin

► To cite this version:

Coralie Martin. La spectroscopie Raman pour la lutte contre la contrefaçon et pour la sécurisation de la filière vin. Chimie-Physique [physics.chem-ph]. Université de Bordeaux, 2015. Français. NNT : 2015BORD0042 . tel-01230259

HAL Id: tel-01230259

<https://theses.hal.science/tel-01230259>

Submitted on 18 Nov 2015

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE PRÉSENTÉE
POUR OBTENIR LE GRADE DE

**DOCTEUR DE
L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX**

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES
SPÉCIALITÉ : Chimie physique

Par Coralie MARTIN

**LA SPECTROSCOPIE RAMAN POUR LA
LUTTE CONTRE LA CONTREFAÇON ET POUR
LA SECURISATION DE LA FILIERE VIN**

Soutenue le 16 mars 2015

Membres du jury :

M. TEISSEDRE Pierre-Louis	Directeur de Recherche CNRS, Université de Bordeaux	Président
M. CORNARD, Jean-Paul	Professeur, Université de Lille1 (LASIR)	Rapporteur
M. MERMOUX, Michel	Directeur de Recherche CNRS, Université de Grenoble (LEMPI)	Rapporteur
M. CASTET Frédéric	Maître de Conférences, Université de Bordeaux (ISM)	Examineur
M. MEDINA, Bernard	Unité de direction de SCL	Examineur
M. GUILLAUME François	Directeur de Recherche CNRS, Université de Bordeaux (ISM)	Directeur de thèse
M. JOBERT Pierre-Paul	Ingénieur, Advanced Track and Trace, Rueil-Malmaison	Directeur de thèse
M. BRINEEL Jean-Luc	Ingénieur de Recherche CNRS, Université de Bordeaux (ISM)	Invité

Titre : La spectroscopie Raman pour la lutte contre la contrefaçon et pour la sécurisation de la filière vin

Résumé :

Les enjeux économiques autour du vin sont importants et induisent de nombreuses fraudes. De nombreuses méthodes d'analyse chimique existent mais elles sont souvent destructives et invasives. La spectroscopie Raman est à priori prometteuse et n'a jamais été exploitée à des fins d'analyse, de traçabilité et d'authentification des vins. Le but de cette thèse est d'en évaluer le potentiel à travers l'étude d'un panel de vins et de solutions modèles. Nous avons en particulier, par une approche combinant expérience et simulations DFT, cherché à identifier les familles moléculaires à l'origine de la diffusion Raman et de l'émission de fluorescence induites par laser.

Mots clés :

vin, spectroscopie Raman, calcul DFT

Title : The spectroscopy Raman for the fight against the forgery and for the reassurance of the sector wine

Abstract :

The economic stakes around the wine are important and lead to many frauds. Many methods of chemical analysis exist, but they are often destructive and invasive. Although Raman spectroscopy is a promising technique, it has never been used for analysis, traceability and authentication of wines. The aim of this thesis is to evaluate its potential through the study of panel of wines and model solutions. It has been tried to identify, by an approach combining experiment and DFT simulations, the molecular families which lead to the Raman scattering and also to the emission of laser-induced fluorescence.

Keywords :

Wine, Raman spectroscopy, DFT

*A Maxime et
à ma famille*

Remerciements

A Philippe Garrigues, le directeur de l'ISM, et à Vincent Rodrigues, le chef du groupe GSM, qui m'ont accueilli respectivement dans leur laboratoire et groupe. Plus largement, à l'ensemble du personnel de l'ISM avec lequel j'ai pu interagir durant ces trois années de thèse.

Aux membres du jury qui ont accepté de lire et d'évaluer ce travail de thèse. A Pierre-Louis Tesseidre, le président de ce jury, qui m'a apporté une approche œnologique. A Jean-Paul Cornard et à Michel Mermoux, les rapporteurs de ce manuscrit, qui part leurs remarques et questions, ont permis de l'améliorer. A Frédéric Castet, pour son aide sur les calculs quantiques, à Bernard Médina pour sa vision de la fraude et des contrefaçons et à Jean-Luc Bruneel pour son expertise en Raman et nos longues discussions.

A François Guillaume, mon directeur de thèse à l'ISM, pour ta patience, ta disponibilité et toutes les connaissances que tu m'as apporté. A tous les autres permanents du groupe GSM qui m'ont aidé par des nombreuses discussions scientifiques et par leur intérêt à ce sujet de thèse. Laura, Tatiana, Elise, Mathilde, Flavio, Margot, Myriem, Claire, Thomas, The Thuong, Sergey (et à tous les autres que je n'ai pas cité) , avec qui j'ai pu partager mes doutes et mes réussites. Nos discussions scientifiques ou autres, réalisées le midi ou le soir, vont me manquer. A Julien et Caroline pour leur bonne humeur et leurs conseils.

Aux différents collaborateurs qui ont participé à ce travail de thèse. A Alain Frisch de l'ISM pour ton apport théorique, à François Guyon du SCL33 pour nos discussions sur le vin, à Michael Jourdes de l'ISVV pour ta disponibilité et le ciblage de certaines molécules du vin. A Pierre-Paul Jobert, mon directeur de thèse d'ATT, et à Alain Foucou, pour leur vision de l'industrie.

A mes amis de longues dates, les deux Camille et leurs conjoints pour leur soutien et les nombreuses discussions. A mes parents et beau-parents pour leur soutien et l'aide qu'ils m'ont apporté. Sans eux, je n'en serai pas là. A mes frères et sœurs, pour leurs affections. Et à Maxime, mon pilier, pour tes encouragements et ton soutien.

Préambule

En avril 2010, la Chambre de Commerce et d'Industrie de Bordeaux (CCIB) en partenariat avec le Conseil Interprofessionnel des Vins de Bordeaux (CIVB) et le cluster Bordeaux Aquitaine Inno'vin, a souhaité réunir les acteurs de la filière « vins de Bordeaux » pour monter un projet cohérent de lutte contre la contrefaçon et de proposer, en complétant la gamme des moyens déjà existants, une chaîne intégrée de sécurisation des vins. Plusieurs réunions de travail ont été organisées autour de cette thématique réunissant des représentants des producteurs de vin, des services de répression des fraudes, des douanes, des entreprises spécialisées dans la traçabilité et le marquage et des laboratoires de recherche pouvant proposer des solutions innovantes. C'est dans ce cadre que cette thèse a été initiée en partenariat avec la société « Advanced Track and Trace » et avec le soutien de la Région Aquitaine, du cluster Inno'vin, du CCIB et du CIVB.

Ce travail a pu être réalisé grâce au soutien financier de :

- La Région Aquitaine,
- L'entreprise Advanced Track and Trace ,
- L'Association Nationale de la Recherche et de la Technologie,
- Le Conseil Interprofessionnel des Vins de Bordeaux,
- La Chambre de Commerce et d'Industrie de Bordeaux

TABLES DES MATIERE

Introduction	14
I L'histoire du vin et de ses fraudes	14
I.1 Les origines du vin actuel	14
I.2 Commercialisation à grande ampleur	14
I.3 Du classement des vins du bordelais à la législation de 1905	16
I.3.1 Contrefaçons et autres fraudes	16
I.3.2 Fraudes et impacts sanitaires	17
I.3.3 Fraudes sur l'appellation et impacts financiers	17
I.4 Le vin Français en termes économiques	18
II La lutte contre la contrefaçon et les fraudes	19
II.1 Analyse du contenant	19
II.1.1 Les marqueurs et traceurs	20
II.1.2 Les méthodes analytiques	21
II.2 Analyse du contenu	22
II.2.1 Etude du vin hors bouteilles	22
II.2.2 Etude du vin à travers la bouteille	22
III Objectif de la thèse	23
Chapitre 1 : Composition du vin et méthodes d'analyses	26
I De la vigne au vin	26
I.1 Vigne et raisin	26
I.1.1 Vigne	26
I.1.2 Maturité du raisin	27
I.2 Passage du raisin au vin : la vinification	30
I.3 Composition du vin	32
I.3.1 Composition chimique du raisin	32
I.3.2 Composition du vin	33
II Etude préliminaire des propriétés optiques du vin	36
II.1 Absorption UV-visible	37
II.1.1 Les vins blancs.....	38
II.1.2 Le vin rouge.....	39
II.2 Absorption infrarouge	40
II.2.1 Absorption moyen infrarouge (MIR).....	41
II.2.2 Absorption proche infrarouge (PIR).....	42
II.3 Spectroscopie induite par « laser »: Raman et fluorescence	43
II.3.1 Maximum d'intensité de fluorescence	44
II.3.2 Diffusion Raman.....	47
III La Stratégie proposée :	51
Chapitre 2 : Etude en solutions modèles pour les vins blancs	54
I Solution mère	54
I.1 L'absorption UV-visible	55
I.2 La fluorescence	55

I.3	La diffusion Raman	56
II	Etude des acides phénoliques	57
II.1	Protocole de calcul	58
II.2	L'absorption UV-visible	59
II.2.1	Acides hydroxycinnamiques libres.....	59
II.2.2	Acides hydroxycinnamiques liés : Acide Caftarique	69
II.2.3	Acide hydroxybenzoïque : acide gallique	71
II.2.4	Conclusion.....	73
II.3	La fluorescence	74
II.4	La diffusion Raman	76
II.4.1	Acides hydroxycinnamiques	76
II.4.2	Acide hydroxycinnamique lié : Acide caftarique	83
II.4.3	Acide hydroxybenzoïque : acide gallique	85
II.5	Résumé des résultats obtenus	86
III	Etude des sucres	89
III.1	L'absorption UV-visible	89
III.2	La diffusion Raman	90
IV	Conclusion	94
Chapitre 3 : Etude en solutions modèles pour les vins rouges		98
I	Les principaux polyphénols du vin rouge	98
II	Les anthocyanes : la malvidine 3-O-glucoside	100
II.1	Calculs DFT	102
II.2	Spectres d'absorption UV-visible expérimentaux et calculés	103
II.2.1	Le cation flavylum A+	103
II.2.2	Les bases carbinols AOH	105
II.2.3	Les bases quinoniques AO	107
II.2.4	Les chalcones C	109
II.2.5	Le spectre d'absorption UV-visible de la malvidine 3-O-glucoside au pH du vin	110
II.3	La fluorescence induite par laser de la malvidine 3-O-glucoside	112
II.4	La diffusion Raman	115
II.5	Conclusion:	118
III	Les tanins	119
III.1	Les Tanins hydrolysables et les tanins condensés	119
III.2	Etude physico-chimique	120
III.2.1	L'absorption UV-visible	120
III.2.2	Fluorescence	121
III.2.3	La diffusion Raman.....	123
IV	Conclusion	124
Chapitre 4 :		126
I	Le vin	126
I.1	Etude de vins blancs	126
I.1.1	L'absorption UV-visible	127
I.1.2	La fluorescence	128
I.1.3	La diffusion Raman.....	129

I.2	Etude de vins rouges	131
I.2.1	L'absorption UV-visible	132
I.2.2	La fluorescence	134
I.2.3	La diffusion Raman.....	135
II	La bouteille de vin fermée : le contenant et le contenu	136
II.1	Les étiquettes et capsule	137
II.1.1	Les pigments	137
II.2	Le verre de bouteille	139
II.2.1	Verre sodocalcique	139
II.3	Analyse par spectroscopies optiques	141
II.3.1	L'absorption UV-visible du verre	141
II.3.2	La fluorescence du verre	142
II.3.3	La diffusion Raman du verre	143
II.3.4	Impact du signal transmis à travers du verre	145
III	Discussion et conclusions	148
Conclusions et perspectives		151
Références bibliographiques		153
Annexe 1 : Les spectroscopies optiques et les appareils utilisés		163
I	Principe générale	163
II	Les spectroscopies d'absorption	164
II.1	L'absorption UV-visible	164
II.2	L'absorption Infrarouge	165
III	Les spectroscopies d'émission	166
III.1	L'émission de fluorescence	166
III.2	La spectroscopie Raman	167
III.2.1	Principe et caractéristique de mesures	167
III.2.2	Support.....	167
III.2.3	L'effet SERS	169
Annexe 2 : Résultat d'optimisation de la géométrie des molécules		171
I	Acides phénoliques	171
I.1	Acide caféique	171
I.2	Acide férulique	172
I.3	Acide sinapique	173
I.4	Acide p-coumarique	174
I.5	Acide caftarique	175
I.6	Acide gallique	176
II	Malvidine 3-O-glucoside	177
II.1	AO1	177
II.2	AO2	178
II.3	A+	179
II.4	AOH1	180
II.5	AOH2	181
II.6	C1	182

II.7	C2	183
Annexe 3 : Fabrication et épaisseur d'une bouteille de verre		185
I	Méthodes de fabrication d'une bouteille de verre	185
II	Epaisseur de verre de bouteille	187

Introduction :

I. L'histoire du vin et de ses fraudes	14
I.1. Les ancêtres du vin actuel	14
I.2. Commercialisation à grande ampleur	14
I.3. Du classement des vins du bordelais à la législation de 1905	16
I.4. Contrefaçons et autres fraudes	16
I.4.1. Fraudes et impacts sanitaires	17
I.4.2. Fraudes sur l'appellation et impacts financiers	17
I.5. Le vin Français en termes économiques	18
II. La lutte contre la contrefaçon et les fraudes	19
II.1. Analyse du contenant	19
II.1.1. Les marqueurs et traceurs	20
II.1.2. Les méthodes analytiques	21
II.2. Analyse du contenu	22
II.2.1. Etude du vin hors bouteilles	22
II.2.2. Etude du vin à travers la bouteille	22
III. Objectif de la thèse	23

Introduction

I L'histoire du vin et de ses fraudes

Depuis toujours, le vin a marqué de son empreinte les civilisations. Ce breuvage a influencé l'évolution des paysages et le développement du commerce. Jouant tout d'abord un rôle important au niveau religieux, son image évolue pour devenir un symbole de haute éducation et de richesse. Il s'est démocratisé et représente, de nos jours, l'histoire, la culture et le patrimoine français. A l'instar des autres pays producteurs de vigne, les français sont fiers de leurs vins et des symboles qu'ils représentent.

Nous aborderons dans cette partie les différents éléments qui conduisirent la filière vin à subir de nombreuses fraudes. Pour cela, nous reviendrons sur le développement de la culture de la vigne sur tous les continents et sur certains facteurs qui ont favorisé l'offre et la demande au niveau mondial.

I.1 Les origines du vin actuel

Loin des procédés et des connaissances actuels, les premiers hommes ont constaté que le raisin écrasé laissé seul devenait avec le temps un nouveau breuvage [1][2]. La disparition du goût sucré et l'apparition d'un état vineux est l'une des plus grandes observations de l'homme. En effet, la découverte de la fermentation, au même titre que celle du feu ou de la roue, est une étape importante dans l'évolution de l'humanité.

L'histoire du vin débute bien avant la culture de la vigne sauvage qui commence vers le septième millénaire avant notre ère dans le Caucase (Géorgie actuelle) et en Mésopotamie [3]. Peu à peu, la vigne s'étend sur le continent et les hommes la domptent en la transformant de sauvage à domestique vers la fin de l'âge de pierre, soit 6000-5000 av. J.-C. L'historien Jean-Baptiste Noé [4] considère que le vin apparaît au moment où l'homme s'est sédentarisé.

La culture de la vigne s'est développée avec l'expansion des civilisations. Au troisième millénaire avant notre ère, la vigne est cultivée par les Egyptiens [5]. Mille ans, plus tard les Grecs développent leur propre culture de la vigne puis c'est au tour des Romains. Chacune de ces grandes civilisations évoque le vin dans ses écrits et l'intègre dans sa religion¹. Cette boisson accompagne allégrement les festins des dieux, puis peu à peu ceux des hommes. Ce breuvage mystique devient également une boisson festive [6]. A partir du II^{ème} siècle avant notre ère, les Romains développent réellement la viticulture pour répondre aux besoins des populations, qu'elles soient civiles ou militaires.

I.2 Commercialisation à grande ampleur

Au Moyen-Age, la vigne est présente sur tout le pourtour de la Méditerranée et le nord de l'Europe. La qualité des vins progresse à cette époque : passant de vins coupés d'eau et agrémentés d'herbes et d'aromates à une forme plus proche des produits actuels. A la fin du X^{ème} siècle, le

¹ Egypte = Shesmou ou Osiris ; Grèce = Dionysos ; Romain = Bacchus ...

savoir-faire vitivinicole est perpétué par les moines qui sont en France les seuls propriétaires des vignobles. La vigne du Bordelais est la seule à ne pas être possédée par l'église. Cette région va donc peu à peu développer son commerce. Avec le mariage d'Aliénor d'Aquitaine avec le futur roi Henri II, la commercialisation du vin Français prend son essor à partir de la fin du XII^{ème} siècle. L'or rouge devient un « *ornement nécessaire à toute existence de haut rang et par là même (l')expression de toute dignité sociale* » [4]. Le vin se transforme en signe de noblesse et de richesse.

Avec la colonisation et l'essor du commerce maritime, la vigne se répand sur tous les continents. Il est possible de retracer son implantation et le développement du commerce vinicole sur la Figure I-1 [7] :

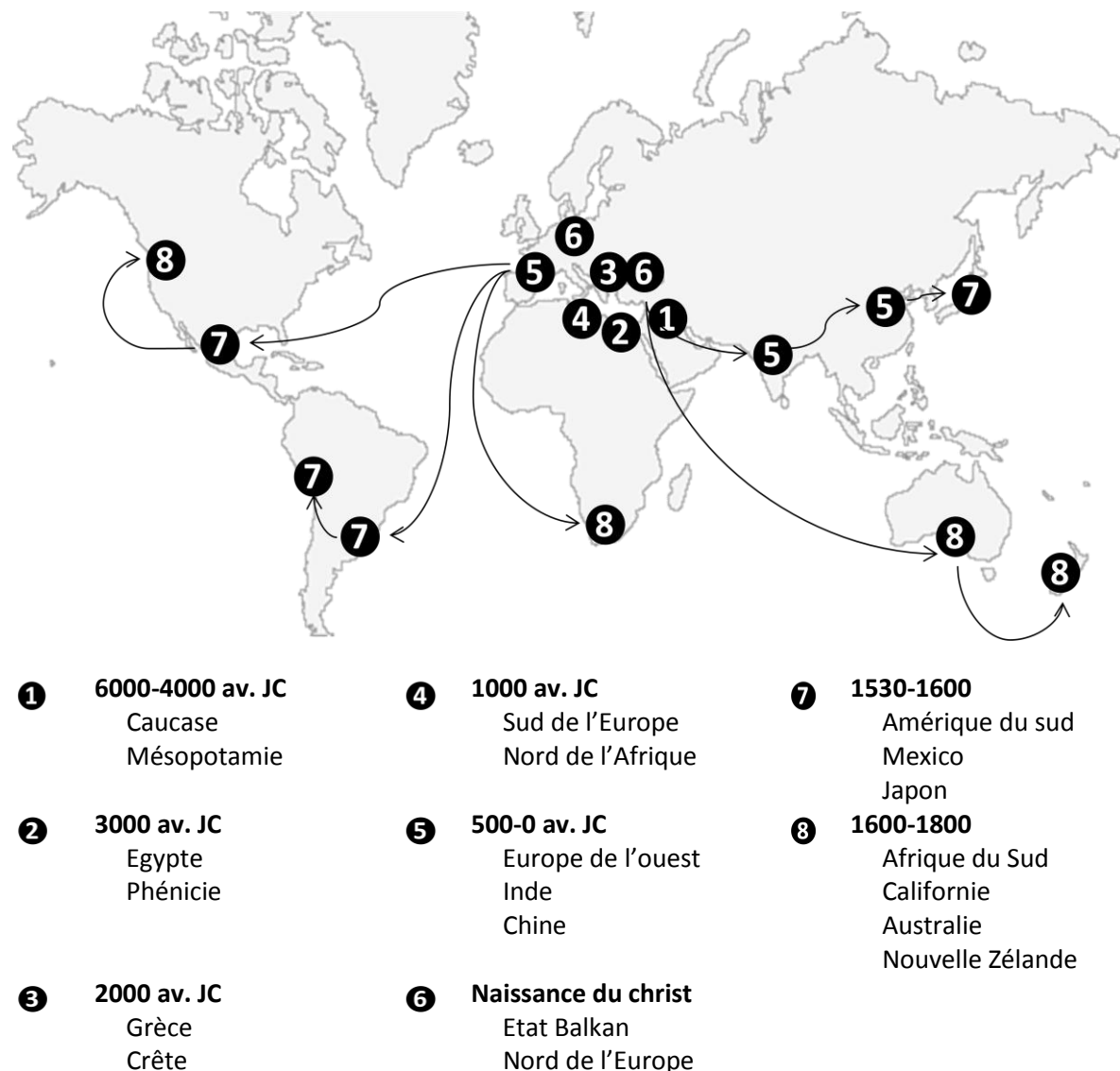


Figure I-1 : L'expansion de la vigne au cours des siècles à travers le monde

La demande de plus en plus importante des populations engendre une expansion de la vigne. De nombreux vignobles ont vu le jour au cours des 19^{ème} et 20^{ème} siècles. Le vin est devenu au cours des siècles un produit de commerce important.

I.3 Du classement des vins du Bordelais à la législation de 1905

Afin d'aider le consommateur, dans un domaine où l'offre est surabondante et mal connue, des classements ont vu le jour. Le plus connu est le premier grand classement de référence élaboré en 1855 à la demande de Napoléon III pour l'exposition universelle de Paris. De nos jours, il sert toujours de référence malgré une étude restreinte au Médoc et au Haut-Brion pour les vins rouges, au Sauternes, au Barsac et au Preignac pour les vins blancs. Critiqué depuis sa création, il est le précurseur d'autres classements tels que « les crus bourgeois » du Médoc ou les crus de Saint-Emilion. Le classement de 1855 est figé depuis sa création contrairement aux deux autres qui sont mis à jour périodiquement. Peu à peu, les vins classés ont vu leur notoriété croître entraînant une demande de plus en plus importante. Cette expansion a été brutalement enrayerée vers la fin du 19^{ème} siècle, principalement par l'apparition de deux types d'insectes.

En 1827, la pyrale, un microlépidoptère phytophage fait son apparition fragilisant les ceps et favorisant la propagation d'autres parasites tels que l'oïdium qui obstrue les pores des feuilles et des grappes ou le botrytis qui est le champignon responsable de la pourriture grise des grains. Cette première crise entraîna une première baisse de production. Ce parasite a cependant eu un effet favorable dans certaines régions grâce à des conditions climatiques favorables (humidité et ensoleillement). Le botrytis développe de la pourriture noble qui permet la production de raisins sur-mûris. Ces derniers seront utilisés et permettront la création des vins liquoreux.

C'est l'apparition vers 1870 du phylloxéra en Europe, un puceron d'origine américaine, qui entraîne en quelques années les plus grands dégâts avec la destruction de nombreux cépages locaux et la disparition de certains vignobles. Jusqu'à cette époque, les vignerons s'inquiétaient essentiellement des grêles et gelées, les maladies de la vigne étaient rares. Ainsi, ils ne sont pas préparés pour lutter contre cette crise. Beaucoup de scientifiques de l'époque se mobilisent pour combattre ce puceron. La solution trouvée a été de reconstituer un nouveau vignoble à partir d'espèces importées résistantes au phylloxéra. Ces espèces se sont cependant avérées être mal adaptées au climat bordelais et des variétés hybrides ont été créées à partir de boutures et de greffes d'espèces européennes sur des ceps américains. Ces modifications des vignobles et les nouvelles techniques mises au point entraînèrent la mise en place de la viticulture industrialisée.

Cette crise dura une trentaine d'années et entraîna pour les vignobles une forte baisse de productivité due à un manque de matière première. Dans le but de limiter les pertes financières certaines pratiques existantes depuis l'antiquité se généralisèrent telles que l'ajout de sucre (chaptalisation), d'eau ou d'alcool. D'autres procédés firent leur apparition générant parfois des risques sanitaires importants, obligeant les autorités à réagir. Or, aucune loi ne prévoyait ce type de problème. Après plus d'une dizaine d'années de travaux juridiques, de nombreuses lois sont établies ; la plus importante étant celle du 1^{er} août 1905 sur les fraudes et falsifications en matière de produits ou de services. Cette loi sert de base à la législation française du 20^{ème} siècle sur le vin.

I.3.1 Contrefaçons et autres fraudes

Comme nous venons de le voir, la seconde partie du 19^{ème} siècle est synonyme de grands changements pour le monde vitivinicole français avec, d'une part la mise en avant de certaines productions avec l'apparition des classements et d'autre part la diminution importante de l'offre

avec l'apparition du phylloxéra. C'est la conjoncture de ces deux types d'événements qui est principalement responsable de l'apparition de la fraude.

Au cours du 20^{ème} siècle, les fraudes et les contrefaçons se développent. Les escrocs trompent le consommateur pour des raisons économiques, mais il n'est pas le seul à subir les impacts négatifs de ces trafics. Les producteurs subissent également de plein fouet la dépréciation de leur produit. La zone d'impact peut même s'étendre à toute une région lors de la divulgation d'une affaire de fraude. Il existe de nombreux trafics, certains avec des impacts sanitaires, dont un bon nombre sont de l'ordre de la tromperie sur l'origine.

I.3.2 Fraudes et impacts sanitaires

Les affaires de tromperie ayant un impact sanitaire sont toujours très néfastes car il peuvent entraîner la mort. En effet certaines affaires défrayèrent la chronique pour des raisons de santé publique. Deux d'entre elles ont particulièrement marqué les années 1985 et 1986. Le premier scandale a touché les vins autrichiens en 1985. Dans le but d'augmenter la valeur de leur vin, certains viticulteurs ont souhaité transformer leur vin sec en vin liquoreux. La chaptalisation (ajout de sucre) étant à l'époque facilement détectable, ils ont ajouté de l'antigel (diéthylène glycol) dans leurs vins blancs. Ce procédé permet de donner plus de rondeur à leurs vins, mais le diéthylène glycol est nocif. Dans cette affaire, la concentration était trop faible pour rendre le vin réellement toxique, mais ce ne fut pas le cas de toutes les affaires de ce type.

En effet, un an plus tard, le cas des vins du sud de l'Italie [8] est beaucoup plus dramatique. Des producteurs peu scrupuleux ont mélangé du méthanol à leur vin dans le but de le rendre plus alcoolisé. Le méthanol présente de nombreux effets néfastes sur la santé pouvant provoquer des nausées, des maux de tête, des troubles de la vue ou une cécité. Ce type de mélange absorbé de façon répétée peut entraîner un empoisonnement conduisant à des troubles cérébraux par l'attaque du système nerveux et induire la mort. Ce mélange entraîna le décès d'une vingtaine de personnes en Italie.

Ces deux scandales ont discrédité les vins autrichiens et italiens pendant plus d'une décennie. Cette contre-publicité entraîna une chute très importante des exportations. Ces affaires restent des exceptions. Dans la plupart des cas, les mélanges sont fait avec de l'eau ou du sucre, et sont donc sans risques pour la santé. Ils entraînent néanmoins des retombées économiques néfastes pour toute une population vitivinicole. En Autriche pour redynamiser le commerce, les autorités ont mis en place une législation beaucoup plus ferme. Aujourd'hui, ce pays a la législation sur les vins la plus stricte d'Europe.

I.3.3 Fraudes sur l'appellation et impacts financiers

Les mensonges sur les appellations sont souvent issus d'un mélange de vins ou d'une substitution d'appellation. Dans certains cas, les mélanges effectués sont réalisés entre vins de différentes origines ou qualités. C'est le cas de l'affaire Labouré-Roi [9] en 2012 : la fraude consista à mélanger des bourgognes et des vins de table de degrés alcooliques supérieurs aux 15 % autorisés par la législation. Cette mauvaise publicité du vin de Bourgogne effraya à la profession ; comme le déclare le procureur de la république de l'époque, l'« image du vin de Bourgogne s'en trouve altérée », induisant alors une diminution des ventes.

Dans d'autres cas, seules les étiquettes sont modifiées comme dans l'affaire de Frigovins [10] en 1999. Ce négociant languedocien achetait du vin italien pour compenser la pénurie du vin du Languedoc-Roussillon. Or, en passant du vendeur italien au consommateur français l'appellation était transformée de « vin de table italien » à « vin de table français ». Cette affaire juteuse n'a heureusement pas eu d'impact négatif pour le vin de table du Languedoc.

Depuis une vingtaine d'années, le marché du « faux » a explosé. La Chine est incontestablement le pays où l'industrie de la contrefaçon des produits est le plus développée, le vin ne faisant pas exception. Le trafic en Chine est beaucoup plus fructueux que les escroqueries européennes car la fraude y est monnaie courante. Il y existe beaucoup de types de fraudes, certaines plus grossières que d'autres. Malgré la prise de conscience de la problématique des contrefaçons par les autorités chinoises, le gouvernement est encore très laxiste envers les personnes qui se font prendre. Les peines sont faibles voir inexistantes. Prenons l'exemple d'un grand château, comme le Château Lafite : en Chine, il est possible de trouver des copies mal orthographiées tel que le Château Laffitte, Lafei ou le Châtelet Lafite [11]. Ces contrefaçons sont acceptées par les autorités chinoises car ils les considèrent comme des produits différents. Il semble facile pour un connaisseur de différencier un « vrai » d'un « faux », ce qui n'est pas évident pour un néophyte.

La consommation de vin en Chine a connu une forte croissance ces dernières années et ce pays est devenu en 2013 le premier acheteur mondial de vin rouge (augmentation de 136 % entre 2008 et 2013). Le vin est, en Chine, un symbole de richesse et de réussite sociale. Ainsi, un autre trafic à craindre a vu le jour, facilité par les acheteurs-consommateurs chinois qui revendent les bouteilles vides [12]. Dans ce cas, même un connaisseur ne peut pas différencier un vrai d'une contrefaçon sans goûter le vin. Des contrefaçons de haut niveau circulent aussi dans le monde entier. De nombreux investisseurs ont été trompés par de grands experts en œnologie ou collectionneurs de vins rares internationaux. Rudy Kurniawan le chinois [13] ou bien Hardy Rodenstock l'allemand [14] font partis de ces grands faussaires et escrocs du monde du vin d'exception. De profils et d'origine très différents, ils jouent de leur notoriété, créent des commerces de vieilles bouteilles mélangeant dans les lots des « vraies » et des « fausses » bouteilles.

I.4 Le vin Français en termes économiques

Malgré toute cette contre-publicité, le vin est toujours fortement produit et consommé dans le monde entier. En effet, la consommation mondiale fut en augmentation jusqu'en 2008 et s'est globalement stabilisée depuis avec une production d'environ 241 millions d'hectolitres par an [16]. Les français se délectent de moins en moins de vin, notamment de vin étranger ce qui se traduit par une baisse de 11 % des vins importés en 2013. Les Français restent tout de même les plus gros consommateurs européens en vin [17]. En effet, les français ont un rapport particulier au vin lié à leur histoire et à leur patrimoine. Avec une consommation en moyenne 1,3 verre par jour, les français consomment en 2012 14 % du vin produit dans le monde. Le vin est un produit culturel très ancré dans nos mœurs. Nos concitoyens consomment environ 90 % de vin français qui est ainsi la boisson alcoolisée la plus absorbée en France.

Pour répondre à cette demande importante, 17 régions françaises sur 22 sont productrices de vin. La France produit 16 % du vin de la planète en 2012. Avec 558 000 emplois directs et

indirects, la filière vin est le second secteur d'exploitation français après l'aéronautique. En effet, la filière vin ne dépend pas seulement du viticulteur, de leurs employés saisonniers et des revendeurs, mais également d'autres corps de métier : tonnellerie, chaudronnerie, bouchonnerie, verrerie, imprimerie, etc, comme le décrit l'établissement national des produits de l'agriculture et de la mer dans son rapport de novembre 2013².

La filière du vin français est également reconnue à l'étranger, le chiffre d'affaires de l'exportation est estimé à 7,8 milliards d'euros/an en 2012 et en 2013, c'est-à-dire à plus de 101 millions d'hectolitres par an. La France reste le premier exportateur de vin mondial [18].

II La lutte contre la contrefaçon et les fraudes

La fraude et la contrefaçon dans la filière du vin ont fortement augmenté en volume et également au niveau économique. Des moyens de suivi et d'authentification des vins sont mis en place dans le but de limiter cette dérive. Or, les faussaires élaborent en permanence de nouvelles méthodes d'escroquerie pour déjouer ces contrôles. Ainsi, les recherches et procédés utilisés au niveau de la sécurisation de la filière vin sont constamment remis en question.

Dans cette partie, nous commencerons par introduire les différents éléments qui constituent une bouteille de vin, puis nous présenterons de façon non exhaustive les différents marqueurs apposés sur ce contenant. Enfin, nous détaillerons de façon succincte les analyses physico-chimiques du vin réalisées soit par prélèvement, soit directement à travers la bouteille.

II.1 Analyse du contenant

L'aspect extérieur d'une bouteille de vin est un moyen de communication qui influence l'acheteur. Il comporte de nombreuses informations qu'il faut savoir décrypter, car seuls ces éléments permettent au consommateur d'avoir une idée du type de vin attendu et plus précisément du contenu de la bouteille.

Il est possible de distinguer deux types d'éléments : le verre de bouteille qui permet de conditionner le vin et les éléments supplémentaires apposés sur ce dernier tels que l'étiquette, la contre étiquette et la capsule. La Capsule Représentative de Droit (CRD), marque apposée sur la capsule au niveau de l'embouchure de la bouteille, contient de nombreuses informations sur l'origine du vin (Figure II-1 et Tableau II-1).

Tableau II-1 : Caractéristiques des capsules "CRD"

Dénomination du vin	bleu : AOP	vert : IGP	orange : produit intermédiaire, vin doux naturel ou vin de liqueur
Statut des opérateurs	R : Récoltant	N : Non Récoltant ou Négociant	E : Entrepositaire Agréé (créé en 2011)

AOP : Appellation d'Origine Protégée
IGP : Indication Géographique Protégée

²<http://www.franceagrimer.fr/content/download/27658/243990/file/BIL-VIN-2013-Importations%C3%A9trang%C3%A8res-CS-13nov-A12.pdf>

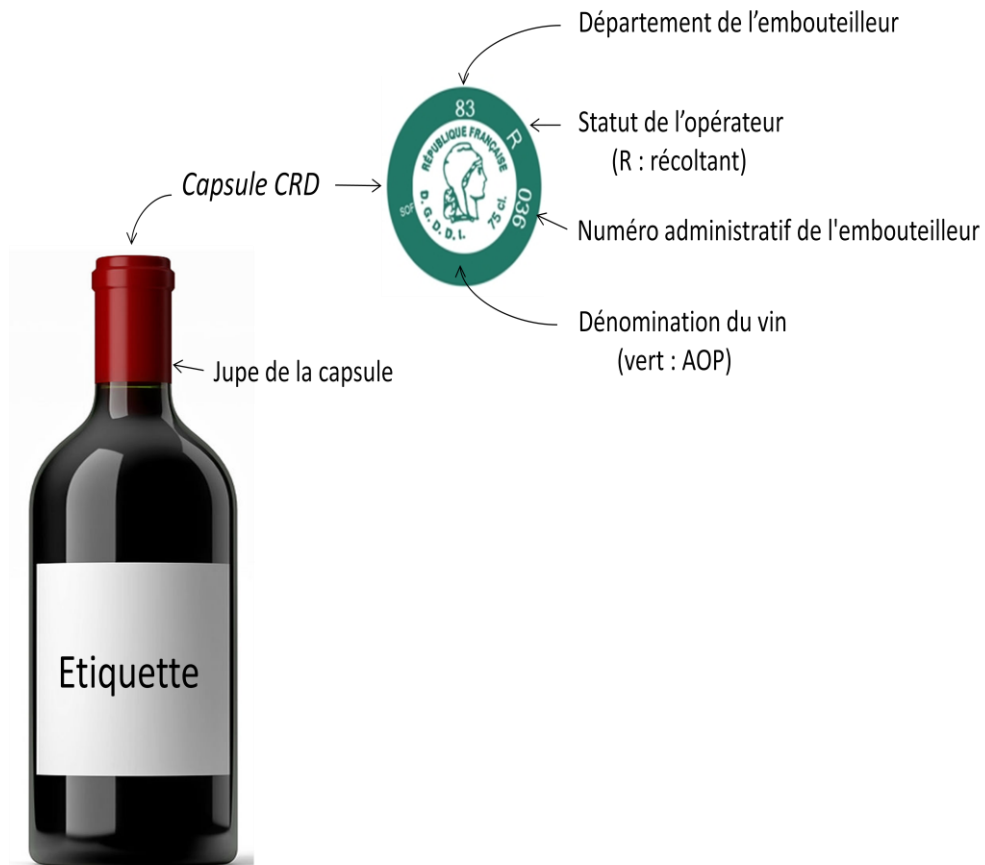


Figure II-1 : Représentation des éléments du packaging d'une bouteille de vin.

Il semble simple de changer une étiquette, une capsule ou même un bouchon. Dans le but de limiter ce genre de fraude, des marqueurs ont été apposés sur chacun de ces éléments pour rassurer le consommateur et pour dissuader les fraudeurs.

II.1.1 Les marqueurs et traceurs

Le verre est primordial pour le packaging car il permet le stockage du vin. Avant l'apparition des étiquettes au cours du 19^{ème} siècle, les bouteilles pouvaient être estampillées d'un cachet en pâte de verre dans le but de reconnaître leur contenu et leur origine. Les plus connues sont les bouteilles de Château Yquem de 1784. En effet, lors de sa visite en France en 1787, le futur troisième président des Etats-Unis visita de nombreuses caves du Bordelais et apprécia particulièrement ce millésime. Il fit graver de nombreuses bouteilles à son nom : Thomas Jefferson. Or ces bouteilles et leur signature de grande renommée furent copiées et revendues par Hardy Rodenstock [15] au cours de la première décennie du 21^{ème} siècle.

Avec l'apparition des étiquettes, ces pratiques furent abandonnées pour un temps. De nos jours, les bouteilles présentent des gravures plus discrètes réalisées à l'aide d'un laser femtoseconde. Cette technique est appliquée dans un premier temps pour numéroter chaque bouteille. Des études sont réalisées sur la dérive de la gravure due à l'état vitreux du verre permettant d'évaluer la période de la gravure. Ceci permet un contrôle supplémentaire de la bouteille. La Figure II-1 présente les différents éléments de communication de la bouteille. L'étiquette a pour but d'informer l'acheteur sur le contenu de la bouteille : dénomination, producteur, millésime, origine... . Ces informations

peuvent être corrélées à celles apportées par la capsule « CRD » comme la dénomination du vin, le département de l'embouteilleur et le statut des opérateurs décrits dans le Tableau II-1. Or, elles ne permettent en aucun cas une sécurisation de la filière.

Le marché présente depuis une quinzaine d'années des méthodes de certification et de traçabilité actives ou inertes, plus ou moins efficaces. Il y a des marqueurs ou des sceaux dits « inviolables » tels que les hologrammes ou les scellés codés apposés sur la capsule et le verre au niveau du goulot de la bouteille. Or, le consommateur ne peut vérifier aisément leur véracité. En effet, ce type de marqueur peut être copié de façon approximative et accolé sur une bouteille. Depuis le développement des Smartphones, des méthodes de suivi avec une base de données déportée ont été développées. C'est le cas des étiquettes avec des codes-barres tridimensionnelles [16] ou à marqueurs multiples.

Depuis quelques années, le marché présente également des traceurs actifs placés sur les bouteilles ou les bouchons. C'est par exemple le cas des « tags RFID » (de l'anglais « radio frequency identification ») qui sont des puces électroniques permettant une identification par radio fréquence. Elles contiennent en général un identifiant, des données du château et du vin. Elles permettent également d'enregistrer des informations lors du transport, telles que la température par exemple.

II.1.2 Les méthodes analytiques

Les méthodes de marquage étant actuellement loin d'être suffisantes, de nombreuses analyses peuvent être réalisées pour contrôler les bouteilles présentant un risque de fraude. En effet, un contenant affichant plusieurs anomalies suggère une contrefaçon.

La méthode de fabrication des bouteilles de verre a fortement évolué au cours du 20^{ème} siècle (annexe 3). Les matières premières, les étapes de fabrication et le passage de l'artisanat à l'industrie à grande échelle permettent d'évaluer de l'époque de la réalisation de la bouteille, que ce soit par des méthodes d'analyse élémentaire ou par l'analyse atomique (molécules, verres, cristaux).

L'une des méthodes d'analyse élémentaire utilisée sur le verre est la méthode PIXE (particle induced X-ray Emission) [17]. Etude multi-élémentaire, rapide et non destructive, elle permet de mesurer, à travers l'analyse de l'émission des rayons X, la concentration de nombreux éléments chimiques. Or ce genre d'analyse nécessite l'utilisation d'un accélérateur de particules impliquant une installation complexe et coûteuse.

Les spectroscopies de diffusion Raman et de fluorescence permettent également l'analyse rapide et non-destructive du verre des bouteilles. Nous pouvons ainsi obtenir une « empreinte digitale » du verre [18]. De façon similaire à l'analyse du verre, il existe des méthodes d'analyse optique en laboratoire qui ont pour but d'identifier les pigments et les encres. C'est le cas du Laboratoire Forensique Documentaire qui utilise de nombreuses analyses du spectre visible et invisible (colorimétrie, dichroïsme, luminescence, microscopie ...). Ainsi, il est possible d'identifier des fraudes par comparaison avec un original. Si nous ne disposons pas toujours d'un échantillon de référence pour de vieilles bouteilles, il est toutefois envisageable d'identifier les différents pigments, encres et méthode d'impression pour remonter à leur époque de création.

II.2 Analyse du contenu

Malgré les analyses, traceurs et marqueurs du contenant, l'étude du vin est nécessaire pour la certification d'une bouteille. Les méthodes actuelles basées sur le dosage d'éléments ou de molécules permettent de détecter une fraude (rajout d'eau, de sucre ou présence d'éléments en quantités ne respectant pas les lois) et non l'identification précise d'une production.

Il est possible de répartir en différentes catégories les analyses réalisées sur les vins commercialisés : les analyses hors bouteille et les rares analyses à travers la bouteille. En effet, la majorité des études réalisées sur les vins se font après ouverture de la bouteille et sont donc destructives.

II.2.1 Etude du vin hors bouteille

Les études du vin réalisées hors bouteille permettent de doser des éléments ou des molécules dans le but soit de vérifier les concentrations pour respecter les normes ou observer des mélanges non-déclarés, soit de déterminer une origine géographique ou un millésime.

En effet, les analyses élémentaires et d'édifices moléculaires réalisées dans les laboratoires d'analyses tels que la DGCCRF (Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes) permettent une vérification des normes européennes ou la mise en avant de concentration d'éléments dans des proportions incohérentes, impliquant un frelatage. Pour cela, ils disposent des nombreuses analyses telles que l'émission de flamme et l'absorption atomique pour doser les éléments minéraux et les métaux lourds. Certaines analyses de dosage de molécules demandent également des traitements chimiques et une installation spécifique. Les études par spectrométrie de masse [19] ou par chromatographie en phase liquide à haute performance sont très performantes mais complexes.

De plus en plus d'appareils portables voient le jour dans le but de lutter plus efficacement contre la fraude. En effet, il existe des appareils capables de réaliser de la colorimétrie ou de la spectroscopie infrarouge à partir de quelques millilitres de vin pur ou dilué dans de l'eau. Ces appareils disposent parfois de logiciels de chimiométrie permettant le dosage de plus d'une vingtaine de familles de molécules tels les sucres ou les acides ...

D'autres études visent à révéler le millésime et l'origine géographique d'un vin. C'est le cas des études par spectrométrie de masse couplée à de la chromatographie en phase liquide à haute performance. Ces analyses ont pour but le dosage des isotopes. En effet, certains rapports isotopiques comme ceux du carbone ou de l'oxygène permettent de déterminer des constantes d'authenticité [20]. D'autres analyses demandent également un traitement chimique et une installation spécifique, c'est le cas des mesures de datation réalisées sur le ^{210}Pb par radioactivité ultra-faible³.

II.2.2 Etude du vin à travers la bouteille

Il n'existe dans la littérature que très peu d'études sur les vins réalisées directement à travers la bouteille, c'est-à-dire ni-destructives, ni invasives.

³ <http://www.cenbg.in2p3.fr/-Dating-Wine-With-210Pb,583-?lang=en>

Les mesures de la très faible radioactivité du ^{137}Cs réalisées sur la plateforme PRISNA (Plateforme Régionale Interdisciplinaire de Spectrométrie Nucléaire en Aquitaine) du Centre d'Etude Nucléaire de Bordeaux-Gradignan (CENBG) permettent la datation de vin produit entre les années 1950 et les années 2000. Cette méthode permet de discriminer également les « faux » vieux millésimes qui ne peuvent pas contenir de ^{137}Cs même à l'état de traces avant les premiers essais nucléaires des années 1950. Il n'est pas possible, par ces analyses de déterminer l'intégrité de la bouteille ou son origine géographique.

Le « wine scanner » [21] réalise, par résonance magnétique nucléaire, une étude du vin à travers la bouteille. Ces analyses du département de chimie de l'université de Californie ont pour but de déterminer la possible dévaluation du vin par des polluants, par l'oxydation, par la madérisation ou par le goût de bouchon. L'intégrité de la capsule et du bouchon [22] peut ainsi être vérifiée. Malgré toutes ces précautions, certains faussaires réalisent un trou pratiquement invisible dans la partie inférieure de la bouteille authentique pour la vider et la remplir à nouveau.

Ces méthodes d'authentification demandent un appareillage encombrant, coûteux et un personnel spécialisé. Ces analyses ne sont donc utilisables que sur des bouteilles de grande valeur présentant un fort risque de fraude. Il semble peu pertinent de les utiliser sur des bouteilles à faible coût.

III Objectif de la thèse

Nous venons de le constater, le vin représente un enjeu économique important. Comme tout produit à forte valeur ajoutée, ce liquide est propice à la contrefaçon et à la fraude. Le vin a vu sa législation évoluer depuis plus d'un siècle pour essayer d'enrayer ce phénomène. Or depuis une trentaine d'années, ces pratiques se sont fortement généralisées. Malgré la mise en place de marqueurs et traceurs, il y a toujours des méthodes pour échanger le contenu d'une bouteille. Les analyses chimiques sont indispensables pour vérifier le contenu d'un flacon. La mise en place d'une nouvelle méthode permettant de caractériser les vins et/ou de doser de nouvelles molécules que ce soit directement ou grâce à une méthode d'analyse statistique est un enjeu important. En effet, il est intéressant de mettre au point une analyse d'expertise pouvant permettant de distinguer un domaine millésimé par rapport à un autre. L'idéal est une analyse rapide, simple, et ne nécessitant pas de traitement chimique du vin. Les spectroscopies optiques sont des méthodes peu ou voir pas utilisées, et c'est particulièrement vrai pour la spectroscopie d'émission induite par laser telle que la spectroscopie Raman.

Cette thèse CIFRE présente de nombreux objectifs. Les buts industriels sont de déterminer l'intérêt de cette spectroscopie pour la traçabilité du vin et pour lutter contre les contrefaçons. Parallèlement à cela, nous nous sommes également donnés des objectifs plus académiques. En effet, il nous semble indispensable de comprendre l'origine à l'échelle moléculaire de l'émission lumineuse des vins soumis à une excitation laser, ainsi que d'évaluer le potentiel de la spectroscopie Raman pour l'analyse chimique des vins. Pour répondre à ces nombreuses interrogations, nous avons découpé ce manuscrit en quatre parties.

Le premier chapitre expose à travers la maturation de la vigne, la composition chimique du raisin qui est la matière première du vin. Nous décrivons rapidement le passage du fruit au vin pour

en déduire la composition (non-exhaustive) du vin en ses principaux éléments. A partir de ces rappels, nous proposons une étude préliminaire pour évaluer les propriétés optiques de vins blancs et rouges que ce soit en absorptions UV-visible et infrarouge, ou en spectroscopie induite par laser telles que la diffusion Raman et la fluorescence.

Le second chapitre est consacré aux résultats expérimentaux et de modélisation pour les principaux composants présents dans les vins blancs. Dans le troisième chapitre, les solutions modèles sont réservées à des composés chimiques présents seulement dans des vins macérés et donc colorés. Ainsi, nous présenterons les résultats pour deux types de familles de composés : les anthocyanes qui colorent le vin et les tanins qui lui donnent son goût si caractéristique.

Le quatrième et dernier chapitre traitera de la validité de méthodes optiques utilisées pour discriminer les différents types de vin et ainsi déterminer leur potentiel pour l'authentification et la contrefaçon.

Nous dégagerons ensuite les conclusions générales des différentes études et développerons quelques perspectives de travaux complémentaires. Nous reporterons dans les annexes des précisions sur les conditions expérimentales et les résultats des optimisations réalisées avec le logiciel « Gaussian 09 ».

CHAPITRE 1 :

Composition du vin et méthodes d'analyses

I. De la vigne au vin	26
I.1. Vigne et raisin	26
I.1.1. Vigne	26
I.1.2. Maturité du raisin	27
I.2. Passage du raisin au vin : la vinification	30
I.3. Composition du vin	32
I.3.1. Composition chimique du raisin	32
I.3.2. Composition du vin	33
II. Etude préliminaire des propriétés optiques du vin	36
II.1. Absorption UV-visible	37
II.2. Absorption infrarouge	40
II.2.1. Absorption moyen infrarouge (MIR)	41
II.2.2. Absorption proche infrarouge (PIR)	42
II.3. Spectroscopie induite par « laser »: Raman et fluorescence	43
II.3.1. Maximum d'intensité de fluorescence	44
II.3.2. Domaine de diffusion Raman	47
III. La Stratégie proposée :	50

Chapitre 1 : Composition du vin et méthodes d'analyses

Nous avons vu dans l'introduction les enjeux économiques et sanitaires liés à la fraude et à la contrefaçon dans la filière du vin ainsi que quelques méthodes utilisées pour en limiter l'ampleur. Pour mettre en place une nouvelle méthode analytique, il faut tout d'abord faire un rapide tour d'horizon des connaissances actuelles de la composition chimique du raisin et du vin. Ce sera l'objet de la première partie de ce chapitre.

Dans une seconde partie, nous nous intéresserons à l'étude analytique des vins par spectroscopie optique. Les spectroscopies d'absorption du rayonnement dans l'UV-visible et l'infrarouge sont des méthodes d'analyse rapides déjà utilisées pour étudier les vins. Il est, dans un premier temps, intéressant d'observer et de comprendre les signaux obtenus sur les vins avec ces deux types de spectroscopies. Cependant, les techniques basées sur l'analyse spectrale de la lumière émise par des vins soumis à un faisceau lumineux dans le visible n'ont été que peu ou pas exploitées jusqu'à présent. Nous allons donc, dans un second temps, explorer qualitativement le potentiel de la spectroscopie d'émission de la lumière pour l'analyse chimique de vins à travers l'émission de fluorescence et la diffusion Raman.

Finalement nous proposerons dans la troisième partie de ce chapitre, sur la base de ce travail préliminaire, une stratégie expérimentale permettant de mieux comprendre l'origine des signaux émis par les molécules du milieu après irradiation lumineuse.

I De la vigne au vin

Le vin est la boisson résultant exclusivement de la fermentation alcoolique complète ou partielle du raisin frais, foulé ou non, ou du jus de raisin.

Dans cette partie, nous allons introduire les processus de la croissance de la vigne et du raisin, puis les méthodes pour transformer le raisin en vin. Nous terminerons en définissant les différentes familles chimiques du raisin, puis celles du vin.

I.1 Vigne et raisin

I.1.1 Vigne

La vigne est le nom usuel pour le genre *Vitis*. Ce type d'arbuste grimpant et sarmenteux regroupe des milliers d'espèces différentes [23]. Pour la production de vin, un nombre limité de cépages [24] est cultivé, dont les principaux proviennent du type *Vitis Vinifera*. Le raisin produit par cette espèce particulière représente le fruit le plus produit dans le monde tant sur le plan de la quantité que sur le plan économique [25].

Les premières années, la vigne n'est pas fertile et ne produit donc pas de fruit. Une fois mature, elle présente un cycle de végétation d'un an, dont il est possible de distinguer deux cycles : le cycle végétatif et le cycle reproducteur. Le premier correspond à l'évolution de la vigne au fil des saisons, alors que le second décrit plus précisément la création du raisin et sa maturation [4][26].

Les cycles végétatif et reproductif sont schématisés dans la Figure I-1 avec pour chronologie le cycle européen de la vigne.

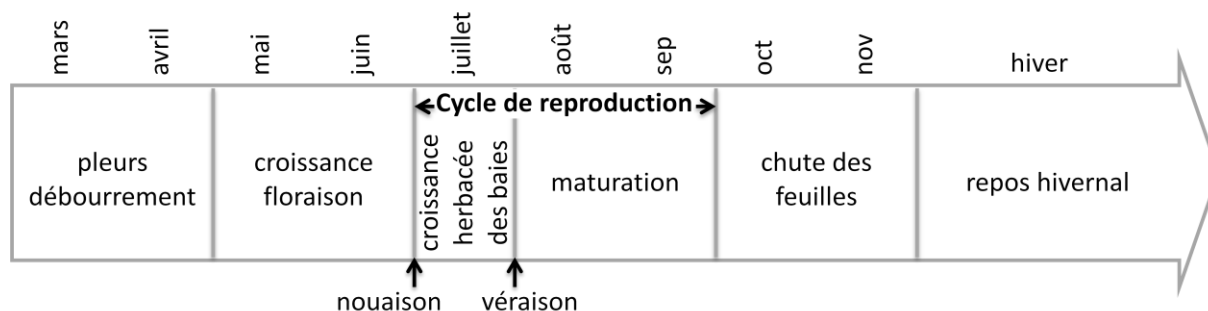


Figure I-1 : Schéma des cycles végétatif et reproductif de la vigne

Les **pleurs** sont les premiers signes extérieurs du réveil de la vigne avec la remontée de la sève dans les sarments. Ces manifestations sont les précurseurs du **débourrement** qui correspond au bourgeonnement puis à la naissance des feuilles et des rameaux. Peu à peu, le plant se développe et fleurit. A la **nouaison**, la plante est pollinisée et fécondée, donnant ainsi naissance aux baies. Le raisin va alors subir des transformations qui sont décrites dans la partie I.1.2.2 et schématisées sur la Figure I-3. La baie, dans un premier temps, croît en restant verte puis sa croissance atteindra un palier herbacé. A la **véraison**, les baies vont de nouveau grossir et changer de couleur, c'est la période de maturation du raisin. Une fois mûr, il sera cueilli. La chute des feuilles est le premier signe du ralentissement de la vie de la plante pour passer l'hiver.

Le taux de nouaison est le pourcentage de fleurs de la grappe transformées en baies. Les viticulteurs se préoccupent depuis toujours d'augmenter le rendement de leurs plants. La productivité dépend du cépage et des conditions de développement du plant. De façon empirique, ils ont sélectionné les cépages les mieux adaptés aux conditions climatiques et géographiques régionales. Certains cépages sont si spécifiques à une région qu'ils en portent le nom, c'est le cas par exemple du muscat de Kélibia en Tunisie. Les viticulteurs ont également étudié les impacts de l'architecture des sarments, de la taille des plants et de la fertilisation des sols [4] pour optimiser les interactions environnementales. En effet, l'alimentation hydrique [27], l'ensoleillement [4], la température, la qualité des nutriments et la structure physique du sol [26] ont une incidence importante sur le taux de production des plants. Il est également évident que la bonne santé des plantes est un facteur important sur le taux de nouaison. Ainsi, des traitements phytosanitaires ont également été développés et mis en place.

I.1.2 Maturité du raisin

Comme nous l'avons vu précédemment, le cycle de reproduction décrit la croissance et la maturation du raisin. Tous les éléments qui constituent la grappe de raisin auront un impact sur la qualité sensorielle du vin final. Nous allons dans un premier temps décrire brièvement les différentes parties qui composent la grappe et la baie de raisin, puis nous aborderons les méthodes utilisées pour appréhender la date optimale de la vendange.

I.1.2.1 Morphologie du raisin

Une grappe de raisin est formée de deux parties : la rafle et les baies. La Figure I-2 présente un schéma des différentes parties du raisin.

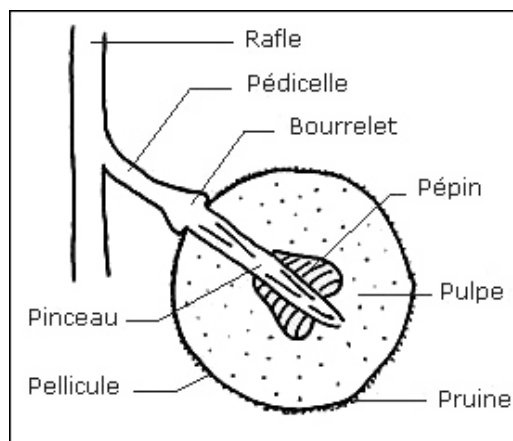


Figure I-2 : Schéma des différentes parties du raisin pouvant jouer un rôle dans la composition du vin

La rafle est la charpente qui supporte les grappes de raisin et sert également à apporter une part importante des ressources aux fruits. Les ramifications les plus courtes supportant la baie sont appelées pédicelles et se terminent par un bourrelet.

La pellicule est une membrane élastique colorée dont la pruine protège le fruit d'agents extérieurs tels que l'humidité, les bactéries et les germes apportés par l'air ainsi que les levures qui sont des champignons unicellulaires forts complexes qui furent largement étudiés et recensés dans « *Yeasts: Characteristics and Identification* » en 2000 [28]. Cette enveloppe représente environ 10 % du poids de la baie mûre. La pulpe est la chair du fruit, c'est la partie la plus importante de la baie avec plus de 80 % du poids total. A maturité, elle est constituée de grosses vacuoles gorgées d'un liquide dont les parois très fines se lacèrent facilement. Elle abrite également les pépins qui sont constitués d'un albumen (chair tendre oléagineuse) recouvert d'une pellicule dure.

Chaque élément de la baie (pulpe, pellicule et pépin) représentés Figure I-2 évolue dans le temps et subit des transformations à des vitesses différentes. Tout l'art du vigneron consiste alors à décider d'une date de vendange à laquelle la qualité des différentes parties de la baie est à un stade d'évolution optimale pour produire le vin souhaité. Nous allons maintenant décrire brièvement les différents critères morphologiques et gustatifs qui serviront au vigneron et/ou aux œnologues pour décider de la période de vendange.

I.1.2.2 Dégustation des baies

Les vignerons ont développé des méthodologies d'analyses sensorielles des baies pour suivre la maturité du raisin et ainsi déterminer le moment le plus propice à la récolte. Des analyses chimiques ont peu à peu été développées pour compléter ces données sensorielles mais elles ne les remplacent pas.

La dégustation des baies constitue donc encore un outil indispensable pour évaluer la maturité du raisin et le potentiel qualitatif des vins. En effet, il y a de grandes corrélations entre le profil sensoriel des baies et celui des vins issus de ces raisins. Une grille d'interprétation (Tableau I-1) a été mise en place par l'Institut Coopératif du Vin (ICV) en 2000. Elle permet de caractériser, à l'aide d'une vingtaine de descripteurs, le niveau de maturité des baies et d'estimer leur potentiel aromatique [29].

Tableau I-1 : Les vingt descripteurs utilisés dans la méthode ICV de dégustation des différentes parties de la baie

	Pulpe	Pellicule	Pépin
Examen visuel		1. Couleur des baies 2. Résistance mécanique 3. Aptitude à l'égrenage	16. Couleur externe
Examen gustatif	4. Adhérence à la pellicule 5. Sucré 6. Acidité 7. Arômes herbacés 8. Arômes fruités	9. Texture 10. Intensité tannique 11. Acidité des tanins 12. Astringence 13. Sécheresse des tanins 14. Arômes herbacés 15. Arômes fruités	17. Dureté du pépin 18. Arômes 19. Intensité tannique 20. Astringence

Cette grille permet de suivre l'évolution de la maturité des baies d'une dégustation sur l'autre et ainsi d'évaluer le moment de la maturité œnologique. Cette maturité est subjective car elle dépend de nombreux facteurs évoluant à des vitesses différentes. La maturité œnologique est un compromis entre trois grands stades de maturité :

- La **maturité technologique**, ou maturité industrielle, correspond à la maturité pulpaire avec une accumulation maximale de potassium et de sucres, ainsi que la diminution de l'acidité totale. Elle est caractérisée par un maximum du rapport de la teneur en sucres sur celle de l'acidité. Elle est déterminée principalement par les données 5 et 6 du Tableau I-1.
- La **maturité aromatique** correspond à une diminution des arômes herbacés au profit des arômes variétaux, c'est-à-dire aux arômes propres au cépage. Ces arômes sont en grande partie responsables de la typicité des vins. Cette maturité est difficile à suivre analytiquement. Les dégustations de la baie entière et des éléments séparément permettent de doser les précurseurs aromatiques, ce qui est particulièrement subjectif. Les descripteurs 7, 8, 14, 15 et 18 permettent en grande partie de quantifier ces paramètres.
- La **maturité polyphénolique** coïncide avec celle de la pellicule et des pépins. Elle correspond à une concentration maximale d'anthocyanes et de tanins peu astringents. Bien que des outils d'analyse chimique permettent de déterminer la maturité polyphénolique, la grande majorité des viticulteurs préfère réaliser des dégustations même subjectives à l'aide des descripteurs 1, 10, 11, 12, 13, 16, 19 et 20 du Tableau I-1.

La **maturité œnologique** considère l'ensemble de ces critères en fonction du type de vin recherché. D'autres facteurs sont également pris en compte tels que les paramètres mécaniques de la baie ou sa texture. Le choix du dégustateur sur le moment de cette maturation est très subjectif et discriminant car il impacte le moment de la récolte. Un raisin mûr se caractérise donc par un grand nombre de paramètres tels que le rapport élevé du sucre sur l'acidité totale, des pellicules riches en anthocyanes et en tanins peu astringents, des pépins relativement pauvres en tanins astringents. Ces différents paramètres sont résumés sur la Figure I-3 [30] :

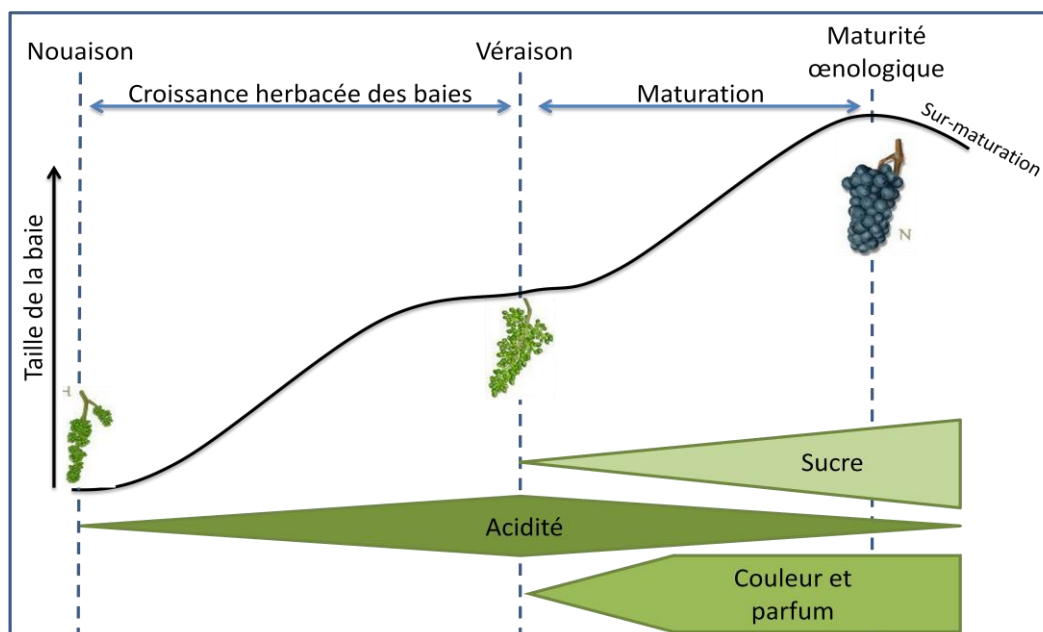


Figure I-3 : Schéma de l'évolution du raisin et de ses principaux composants au cours du cycle de reproduction estimé de juillet à fin octobre en Europe.

Selon le vin convoité, le raisin peut aussi être récolté lors de la période de sur-maturation, le but étant d'enrichir le vin en sucre. Pour cela, les raisins peuvent être atteints de pourriture noble (vendange sur-murie), dans certains cas gelés (vendange tardive) ou bien desséchés sur pied. Ces trois techniques entraînent une diminution du volume de jus avec l'augmentation de la concentration en sucres.

I.2 Passage du raisin au vin : la vinification

Trois grandes catégories de raisin se distinguent en fonction de la couleur de la pellicule et de celle de la pulpe : les cépages à pellicule et à pulpe blanches permettent d'obtenir des vins blancs, les cépages à pellicule noire et à pulpe blanche donnent des vins blancs de noirs et les cépages à pellicule noire et pulpe noire sont des cépages teinturiers. Une fois la date de vendange établie à partir de la maturité du raisin ainsi que des aléas climatiques (grêle, pluie ...), il est nécessaire de déterminer la méthode utilisée pour la récolte. En effet, elle peut être réalisée manuellement ou mécaniquement suivant la taille, la géographie du vignoble et du type de vin souhaité. Le soin apporté au raisin lors de ce traitement joue un rôle important sur la qualité du vin.

Il existe de nombreux types de vins que nous pouvons distinguer selon de leur couleur (robe), leur concentration en sucre ou en gaz carbonique La robe étant un facteur visuel facile à identifier, il est possible de définir trois grandes familles à partir de ce critère : les vins rouges, les vins blancs, les vins rosés. Il est possible également de différencier deux types de vins rosés : ceux de couleur sombre, tels que les Clairets obtenus par saignée, et ceux de couleur claire tels les vins de Provence obtenus par pressurage direct. Les quantités de sucre et de gaz carbonique dans un vin ont des dénominations spécifiques. Pour la quantité de sucre, il y a les secs pour moins de 4 g/L de sucre résiduel, les demi-secs pour 4 à 20 g/L, les moelleux de 20 à 45 g/L et les liquoreux pour plus de 45 g/L. Les vins effervescents (perlant, pétillant ou mousseux) s'opposent aux vins tranquilles par la présence de gaz carbonique. Nous ne traiterons pas ici les vins contenant du dioxyde de carbone.

Ces différents vins se distinguent par leur mode de vinification [4], dont chacune est caractérisée par plusieurs étapes dont l'ordre varie d'une famille à l'autre. La Figure I-4 résume les différentes étapes de la vinification :

- La **récolte** ou la vendange est la première étape du processus de vinification que nous avons décrite précédemment.
- L'**égrappage** ou l'éraflage est le processus permettant de séparer les baies de la rafle et des feuilles. Le but étant de limiter l'apport non souhaité de constituants venant de ces éléments de la vigne donnant un goût herbacé au vin. Le **foulage** a pour but de libérer le jus du raisin sans écraser les pépins, évitant ainsi l'extraction d'huile et d'arômes non souhaités. On obtient ainsi un mélange, appelé moût, constitué d'une phase liquide (jus) et de matières solides (marc). Cette étape est souvent simultanée avec celle de l'égrappage pour limiter les manipulations. Lors **de la macération**, qui ne concerne que les vins rouges et certains rosés, les constituants présents dans le marc se dissolvent dans le moût lui donnant sa couleur et certains arômes. Le temps de macération varie suivant le type de vin souhaité ; un vin de crue aura une cuvée longue (6 à 12 jours) pour donner un vin plus astringent et plus parfumé. Les vins de consommation courante doivent être plus souples ainsi la cuvaïson sera plus courte (2 à 4 jours). Les rosés sombres ont une macération encore plus courte (6 à 48 heures).
- La **fermentation alcoolique** est la transformation par les levures (provenant de la pruite ou rajoutées artificiellement) du sucre en alcool, gaz carbonique et arômes, ce qui produit de la chaleur. Il faut environ 16 - 18 g/l de sucre pour former 1° volumique d'éthanol. Cette étape est limitée soit par la transformation de tous les sucres, soit par la mort des levures sensibles au degré alcoolique du milieu. Ce seuil dépend du type de levure utilisé et permet l'obtention de vins sucrés.
- Le **pressurage** permet de clarifier le moût en séparant les phases solide et liquide dans un même contenant. Le soutirage qui est réalisé simultanément consiste à extraire le jus de la cuve et des fûts pour éliminer les dépôts (levures ou bactéries mortes, cristaux d'acide tartrique ...) et le gaz carbonique dû à la fermentation alcoolique. Le **débourbage** est une étape de clarification du moût propre aux vins blancs et certains rosés permettant de séparer le jus des parties solides afin d'extraire les dernières petites particules solides en suspension ou cristallisées en fond de cuve.
- La **fermentation malo-lactique** est l'étape de transformation de l'acide malique en acide lactique (et en gaz carbonique) sous l'action de bactéries. Cette étape permet de diminuer l'acidité gustative du vin.
- L'**élevage** est l'une des dernières étapes durant laquelle le vin est clarifié et affiné, c'est-à-dire qu'on laisse la composition du vin évoluer pour se bonifier. Cette étape peut aller de 1 mois à 1 an. Elle peut être réalisée dans des cuves (inox, béton, résine ...), avec éventuellement des copeaux ou dans des fûts de chêne, ce qui rajoute une note boisée au vin. Cette étape est accompagnée de soutirage pour extraire le surplus de gaz carbonique et éliminer de nouveaux dépôts. Le gaz carbonique peut être également diminué par micro-oxygénation ou micro-bullage.
- La **mise en bouteille** est la dernière étape. Ce contenant avec un bouchon adéquat permettra au vin de vieillir dans une atmosphère peu oxygénée (limitation du risque de

madérisation). La composition chimique du vin en bouteille va évoluer lentement au fil des ans.

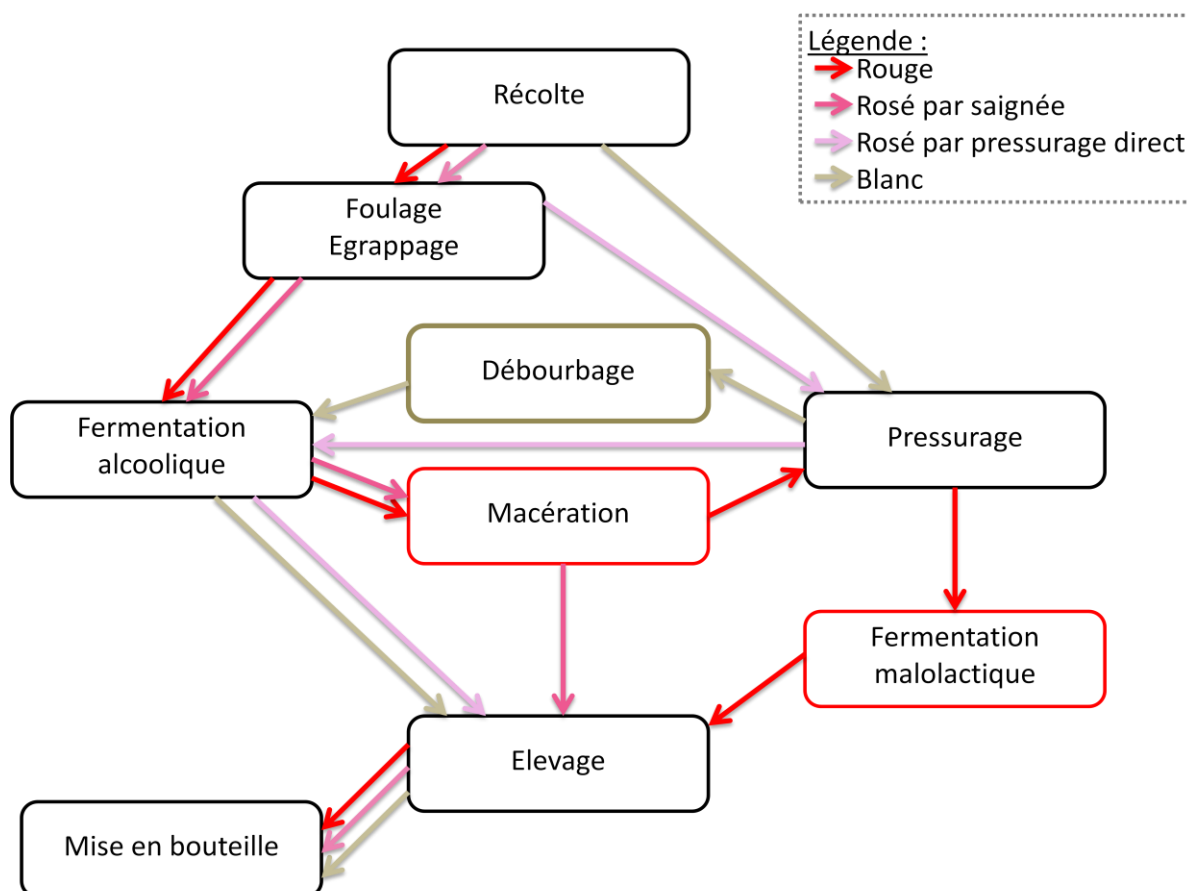


Figure I-4 : Schéma de la vinification des vins rouge, rosé et blanc

Chaque type de vinification est caractérisé par des opérations dont l'ordre est spécifique (Figure I-4). Certaines étapes sont propres à un type de vin, par exemple le débouillage pour le vin blanc ou la fermentation malo-lactique pour le vin rouge. La durée de macération va jouer un rôle important sur le type de vin souhaité. Ainsi, les vins rouges et les vins rosés obtenus par saignée vont être macérés. Le temps de contact entre la pellicule et le jus sera pratiquement nul pour les vins blancs et assez bref pour les rosés obtenus par pressurage direct.

I.3 Composition du vin

I.3.1 Composition chimique du raisin

Lors de la vinification, les différents éléments du raisin sont plus ou moins mis à contribution lors de la macération. Ainsi la pulpe est toujours utilisée mais les contacts avec les pépins et la pellicule seront contrôlés lors de la macération. La rafle peut également jouer un rôle pour les vins blancs qui ne sont pas égrappés avant pressurage. La composition chimique de chaque élément (rafle et baie) va donc déterminer celles du jus et du moût.

Les différents constituants de la grappe de raisin étant des éléments végétaux, elle présente une composition chimique complexe car de nombreuses réactions s'y déroulent tout au long de sa vie. La rafle se compose principalement d'eau, de matières azotées, d'acides et de composés

polyphénoliques tels que les tanins. Elle présente de nombreuses autres familles de molécules dans de plus faibles concentrations comme la lignine qui lui donne sa rigidité. Elle apporte aux vins blancs de l'acidité et de l'astringence leur conférant ainsi des qualités neuroleptiques particulières.

La composition chimique de la baie va dépendre de sa maturation et de son cépage. Chaque élément du fruit, la pulpe, la pellicule et le péricarpe apportera des composés spécifiques. Lors de sa maturation, la pulpe devient sucrée et peu acide. Sa chair se ramollit et devient moins adhérente à la pellicule et aux pépins. Les arômes herbacés du raisin vert disparaissent pour laisser place à des arômes fruités et à une faible coloration. Cela se traduit par une diminution des acides organiques, un enrichissement en sucres (principalement : fructose, glucose et saccharose), des variations en matières minérales (croissance en potassium, diminution en calcium et magnésium) et en composés azotés. La pulpe est la première source d'eau et de sucre du jus. Au moment de la maturité phénolique, plusieurs paramètres sensoriels de la pellicule sont pris en compte. La couleur des baies, leur résistance mécanique et l'aptitude à l'égrenage sont examinées visuellement. L'acidité et l'astringence sont étudiées de façon gustative, de même que la texture, les arômes herbacés et fruités. Tout ceci se traduit chimiquement par la présence de nombreux polyphénols tels que des tanins plus ou moins polymérisés, des dérivés d'anthocyanes, ainsi que des matières odorantes. La pellicule présente également des composés minéraux, cellulotiques et azotés en plus faible quantité, ainsi que sur sa surface des levures, des bactéries et des germes. Une baie contient en moyenne entre 1 à 4 pépins qui présentent sur leur cuticule de nombreux composés phénoliques (tanins peu polymérisés), matières azotées et phosphates. Il est également possible d'en extraire des substances huileuses en les écrasant.

Ces différentes compositions peuvent être résumées comme sur le Tableau I-2 :

Tableau I-2 : Récapitulation des principaux composés chimiques issus d'une grappe de raisin

Partie	Composition	Rôle vinique
La pulpe	Eau, sucre, acide	L'eau est le constituant principal du vin et le sucre sera transformé en alcool par les levures
La pellicule	Matières colorantes	Elle donne la couleur rouge au vin
La praine	Réserve de ferments	Les levures sont les responsables de la fermentation alcoolique
Les pépins	Matières oléagineuses, tanin	La matière grasse dont les parfums et les arômes ne sont pas souhaitables,
La rafle	Eau, tanin, acides	Apporte l'acidité et l'astringence (tanins) nécessaire à l'équilibre du vin.

I.3.2 Composition du vin

La composition du vin dépend de la qualité du raisin récolté, de son cépage, ainsi que de la méthode de vinification utilisée. Le vin recèle plus d'un millier de substances différentes. L'eau à elle seule représente plus de 80 % du volume total du vin et de nombreuses espèces chimiques sont présentes à quelques ng/L. Même si la composition exacte des vins n'est pas connue, il est cependant possible de classer les principaux éléments en grandes familles : alcools, sucres, acides, matières azotées et soufrées, phénols, matières minérales et odorantes ...

I.3.2.1 Alcool et sucres

L'alcool est produit durant le processus de fermentation qui requiert deux ingrédients : du sucre et des levures. Le sucre représente 15 à 20 % en poids des constituants du raisin. Les levures quant à elles sont présentes naturellement sur la pruine, mais peuvent être également rajoutées lors de la mise en cuve. Les levures dégradent les mono-glucosides (glucose et fructose) principalement en éthanol. Ces organismes supportent mal les teneurs élevées en alcool qu'elles produisent et finissent par en mourir. La teneur seuil dépend de la variété des levures. Ainsi le degré alcoolique du vin sera déterminé soit par la quantité de sucre, soit par la teneur seuil en alcool que peuvent supporter les levures. Ce paramètre étant donc limitant, le vin sera plus ou moins sucré suivant les concentrations résiduelles en sucres.

Comme il est dit dans la partie I.1.2.2., le raisin est constitué de glucose et fructose en faible quantité par rapport au saccharose qui est majoritaire. Or ce sucre n'est naturellement pas présent dans le vin. Dans la Figure I-5 est schématisée la fermentation du saccharose par les levures, soit la transformation des sucres en alcool dans le vin. La première étape est l'hydrolyse du saccharose en sucres mono-glucosides sous l'influence d'une invertase levurienne : « Pour cette raison, le saccharose ne peut pas exister dans le vin, sauf s'il a été frauduleusement ajouté après la fermentation » [31]. Le reste du processus est cyclique entraînant la création de gaz carbonique et d'éthanol.

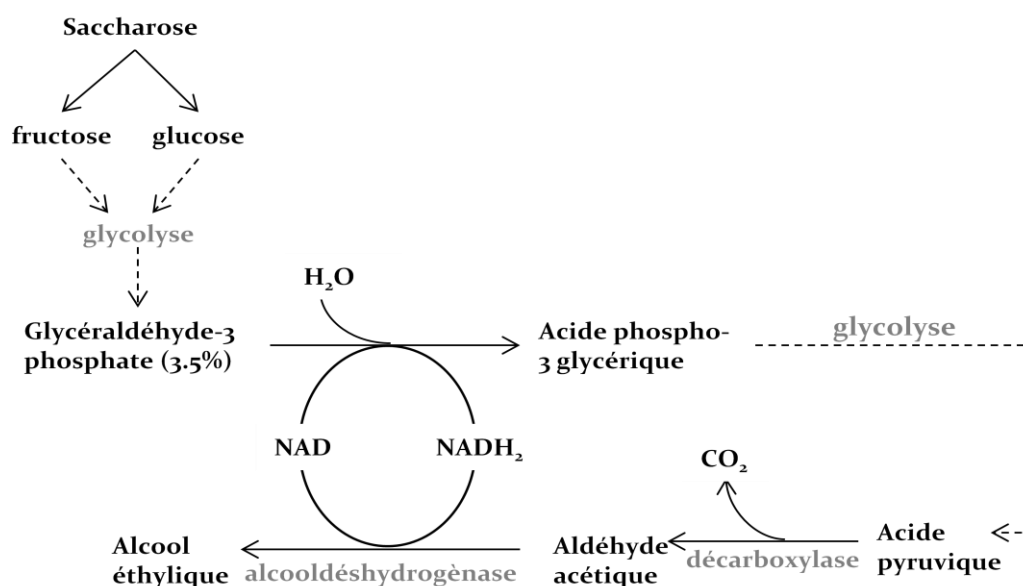


Figure I-5 : Voie de la glycolyse et de la fermentation alcoolique (NAD^4 et NADH_2 sont des coenzymes oxydoréducteurs)

I.3.2.2 Acidité totale

L'acidité est l'une des quatre saveurs, avec le sucré, le salé et l'amertume, que les papilles gustatives de la langue perçoivent. Pour un vin de qualité, l'acidité peut être recherchée. Les œnologues utilisent de nombreux termes pour qualifier la perception agréable d'acidité plus ou moins intense comme la nervosité, la vivacité ou la fraîcheur au vin. Le glossaire liste tous les termes œnologiques utilisés dans ce manuscrit. Les acides jouent plusieurs rôles, en effet ils participent

⁴ Nicotinamide adénine dinucléotide

largement à la constitution, à la stabilité et aux qualités organoleptiques des vins. Ils confèrent des propriétés de conservation et de stabilité microbiologique, ils donnent du goût et protègent l'intégrité du vin. Ainsi, il faut doser l'acidité du vin dans le but d'optimiser ces deux paramètres. Plusieurs types d'acides se retrouvent dans le vin. Les acides volatils, peu présents dans le raisin, sont principalement formés lors de la fermentation alcoolique. Présents en faible quantité, ils ont un rôle œnologique important mais s'évaporent après ouverture de la bouteille de vin. Le goût acide du vin provient essentiellement des acides organiques.

Le raisin est constitué principalement de deux acides organiques : l'acide tartrique et l'acide malique. Le premier est prépondérant dans le raisin et le vin avec une concentration moyenne de 5 g/L. Cet acide relativement fort ($pK_a = 3,01$) confère au vin un pH de l'ordre de 3 - 3,5 et il joue un rôle de tampon. L'autre acide important est l'acide malique qui, dans le cas des vins rouges, est transformé en acide lactique durant la fermentation malo-lactique, rendant le vin moins agressif et plus sapide, donc plus souple. A ces acides, il faut ajouter les acides phénoliques tels que les acides hydroxycinnamiques ou hydroxybenzoïques qui seront décrits plus précisément dans le chapitre 2.

I.3.2.3 Composés phénoliques

Il existe de nombreux composés phénoliques présents dans le raisin et donc dans le vin. L'unité de Nutrition Humaine du Centre de Recherche de Clermont-Ferrand (INRA) a constitué, avec le soutien du ministère français de la recherche et en collaboration avec des partenaires académiques européens, canadiens et des industriels, une base de données recensant les compositions phénoliques de nombreux produits agro-alimentaires dont les vins. Cette base de données est accessible sur le site internet : <http://www.phenol-explorer.eu/> [32]. Elle permet de remonter à la concentration de certains composés que l'on peut classer en deux grandes familles : les composés non-flavonoïdes et les flavonoïdes. Les acides phénoliques font partie de la première famille, les anthocyanes et les tanins de la seconde.

Les flavan-3-ols (briques élémentaires du tanin) et les anthocyanes (responsables de la couleur du vin) sont principalement présents dans les raisins et dans les vins [33] macérés. Ces deux familles de molécules seront plus amplement étudiées dans le chapitre 3.

I.3.2.4 Conclusion

Il existe bien d'autres composés dans le vin tels que les composés minéraux et organiques qui donnent un goût salé et une fraîcheur au vin. Les substances azotées, les éléments aromatiques ou les vitamines conditionnent les qualités organoleptiques [34], avec des rôles œnologiques bien spécifiques. Les principaux composants sont listés dans le Tableau I-3 ainsi que leurs concentrations moyennes et leurs propriétés œnologiques [35].

Tableau I-3 : Nature, quantité et propriétés des principales catégories de substances présentes dans le vin

nature	g/L	Action/valeur
Eau	800 à 850	Solvant
Sucres mono-glucoside	0 à 120	Nutritif, goût sucré
Alcool		Organoleptiques
Ethanol	120	
Glycérol	5 à 15	
Butane-2,3-diol	1	
Acides		Acidité, goût acide
Ac. Tartrique	50	
Ac. hydroxycinnamique	10^{-2} à 10^{-3}	Bactéricide
Ac. hydroxybenzoïque	10^{-2} à 10^{-3}	
Polyphénols		Organoleptiques, santé
Tanins condensés	0.1 à 3	Astringence
Flavonoïdes	< 0,2	Couleur jaune
Anthocyanosides	< 0,5	Couleur rouge
Autre substance		
Substance azotés	traces	Nutritif
Composés aromatique	traces	« Bouquet des vins »
Vitamines	traces	Vitaminique
Minéraux	traces	

Les propriétés optiques du vin liées à l'absorption ou à l'émission de photons ne dépendent cependant que de quelques familles moléculaires spécifiques. Nous allons tenter d'identifier dans l'étude préliminaire qui suit les principales espèces chimiques qui peuvent être identifiées par spectroscopies optiques.

II Etude préliminaire des propriétés optiques du vin

De nombreuses méthodes d'analyse chimique dans le domaine des vins ont vu le jour au cours des 75 dernières années [36]. L'Organisation Internationale de la Vigne et du Vin (OIV) a validé des protocoles d'analyse chimique des vins et des moûts qui sont respectés à l'échelle mondiale. Ces analyses sont réalisées à l'aide de nombreuses méthodes comme par exemple la RMN (Résonance Magnétique Nucléaire) ou la HPLC (Chromatographie en phase liquide à haute performance). A part les absorptions UV-visible et FTIR (spectroscopie infrarouge par transformé de Fourier), les spectroscopies optiques d'émission sont quant-à-elles peu exploitées.

Dans cette partie, nous aborderons les mécanismes d'absorption et d'émission du rayonnement électromagnétique dans le domaine spectral allant de l'ultra-violet (UV) à l'infrarouge (IR). Nous commencerons par introduire les principales techniques de spectroscopies optiques mentionnées dans ce manuscrit, l'absorption UV-visible, l'absorption infrarouge, la fluorescence et la diffusion Raman. Nous étudierons ensuite trois échantillons de vins dans le but de comparer le potentiel de chacune de ces techniques à des fins d'analyse chimique.

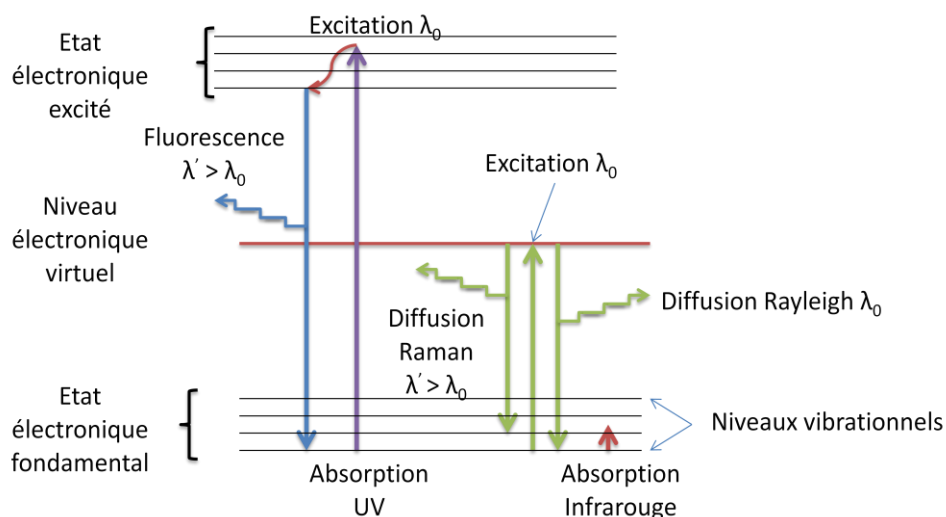


Figure II-1 : Schéma des différentes spectroscopies optiques utilisées dans cette thèse

Sur la Figure II-1 sont représentés schématiquement les différents mécanismes d'interaction rayonnement-matière dans le domaine ultraviolet - infrarouge moyen. L'absorption de photons dans l'infrarouge moyen permet de sonder les états vibrationnels des molécules et est à l'origine de la spectroscopie d'absorption infrarouge. Pour un milieu transparent, l'interaction des photons dans le visible avec les molécules va provoquer les oscillations forcées des électrons modulées par les vibrations moléculaires et est à l'origine de la spectroscopie de diffusion Raman. L'absorption des photons dans le visible ou dans l'UV permet de sonder les états électroniques des molécules et est à l'origine de la spectroscopie d'absorption UV-visible. Après absorption d'un photon, la molécule dans son état excité va dissiper son énergie par conversions internes puis regagner l'état électronique fondamental en relaxant son excès d'énergie par l'émission d'un photon. Cette émission de lumière est la fluorescence. Finalement, la molécule proche d'un état vibrationnel-électronique excité va parfois relaxer son énergie vers le niveau électronique fondamental sans passer par les étapes de conversion interne. C'est la diffusion Raman de résonance.

Cette étude préliminaire porte sur trois vins représentatifs : un vin blanc sec peu coloré, un vin blanc moelleux riche en sucres et un vin rouge très coloré. Les caractéristiques des appareils utilisés et les paramètres d'acquisition sont reportés en Annexe 1.

II.1 Absorption UV-visible

La spectroscopie d'absorption UV-visible est une méthode analytique largement utilisée dans le milieu vinicole. En effet, sa rapidité et sa simplicité d'utilisation en font un procédé d'analyse apprécié. L'absorption UV-visible est exploitée pour doser, de manière indirecte en utilisant des réactifs appropriés, des dizaines de constituants ou pour déterminer la couleur du breuvage [36][37]. Des équipes de recherche utilisent cette spectroscopie couplée à la chimiométrie⁵ dans le but de classer les vins suivant les régions [38] ou d'aider au contrôle qualité du vin à partir de la couleur des vins [39] pour déterminer leur maturité.

⁵ La chimiométrie est une méthode statistique dont le but est d'extraire un maximum d'informations de données chimiques, également appelée analyse de données multi-variées.

La spectroscopie d'absorption UV-visible présente un intérêt dans notre étude car c'est un préalable indispensable pour la compréhension des phénomènes d'émission de fluorescence, de diffusion Raman « normale » ou de diffusion Raman de résonance. Comme nous l'avons vu précédemment, cette spectroscopie optique, simple et rapide à mettre en place, permet de remonter à de nombreuses informations ; il est donc intéressant de comprendre les spectres obtenus et de savoir s'ils peuvent nous apporter des renseignements discriminants complémentaires aux autres spectroscopies optiques.

Sur la Figure II-2 est schématisé le spectre du rayonnement électromagnétique pour les longueurs d'onde du visible allant 380 nm (proche UV) à 800 nm (proche infrarouge), ainsi que les spectres d'absorption UV-visible des trois vins étudiés. Ces spectres sont obtenus avec le spectromètre UV-visible Lambda 650UV de Perkin-Elmer dans des cellules de 1 mm avec un pas de 2 nm et un temps d'acquisition par point de 0,4 s.

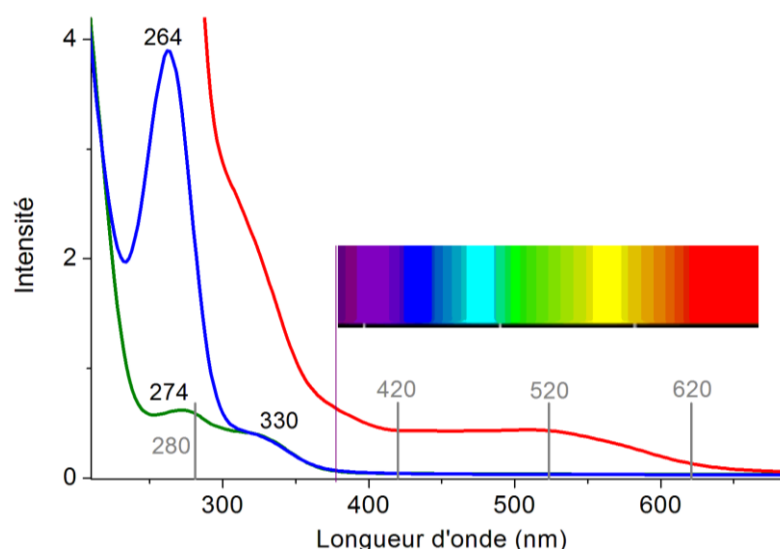


Figure II-2 : Spectre d'absorption pour un chemin optique de 1 mm des trois vins ; le vin rouge en rouge, le vin blanc moelleux en bleu et le vin blanc sec en vert

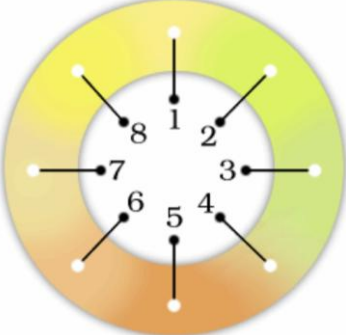
L'étude par spectroscopie d'absorption UV-visible permet pour des longueurs d'onde supérieures à 250 nm d'observer les composants phénoliques du vin. En effet, ce sont les seuls composants absorbant dans ce domaine et donc les seules molécules pouvant donner la couleur au vin. Les spécificités de ces composants en absorption UV-visible sont maintenant bien identifiées [40]. Nous distinguons des bandes d'absorption dans l'ultra-violet et dans le visible. Ainsi, chaque type de vin se distingue par plusieurs maxima d'absorption spécifiques que nous allons maintenant détailler.

II.1.1 Les vins blancs

Les spectres des vins blancs (Figure II-2) présentent deux bandes importantes avec des maxima dans les régions de 264 – 274 nm et de 330 nm. Ces deux bandes sont dues en partie aux acides organiques de type phénolique [40]. La bande d'absorption vers 270 nm est due en partie aux acides hydroxybenzoïques et la seconde vers 330 nm, moins intense, est attribuée à la famille des acides hydroxycinnamiques. L'intensité de l'absorption dans cette zone varie suivant le type de vin blanc, ainsi un vin sec absorbera moins qu'un vin sucré. Le pied de ces bandes s'étend jusque dans le visible.

La couleur jaune clair des vins blancs est due aux faibles absorptions du rayonnement entre 400 et 500 nm. Une liste non-exhaustive des variations des différentes teintes des vins blancs est présentée dans le Tableau II-1.

Tableau II-1 : Les différentes teintes de vin blanc tirées de la page internet : <http://www.ceautsophia.com/site/Oenologie/Base/Bvinification.pdf>

	Teintes
1	1 : Jaune paille clair
2	2 : Jaune clair à reflets verts
3	3 : Or vert
4	4 : Jaune Ambré
5	5 : Marron
6	6 : Cuivré
7	7 : vieil or
8	8 : Jaune citron

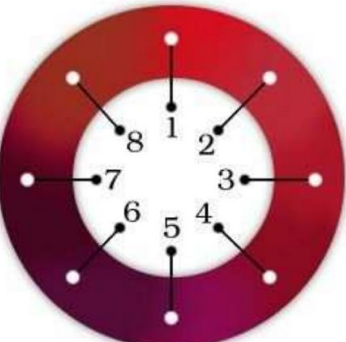
L'origine de ces différentes couleurs n'est pas encore complètement comprise. Sylvie Biau [41] a mis en évidence deux origines possibles de cette coloration. Elle a constaté que les substances phénoliques oxydées conduisent à la formation de composés plus ou moins jaunes. Elle a également mis en évidence la présence des 3-O-rhamnosylquercétol dans ce type de vin qui est un composé présent en très faible concentration mais qui possède des propriétés colorantes.

II.1.2 Le vin rouge

Dans la partie UV du spectre, deux bandes d'absorption sont discernables : un épaulement vers 330 nm et une très forte absorption au-dessous de 300 nm, tellement intense que le rayonnement n'est plus transmis. Il faudrait diluer le vin dans de l'eau, compte-tenu du trajet optique de 1 mm, pour pouvoir mesurer un spectre d'absorption en dessous de 300 nm. Les deux types d'acides phénoliques présents dans les vins blancs le sont également dans les vins rouges mais en bien plus forte concentration [32].

Le spectre du vin rouge (Figure II-2) se caractérise dans le visible par une absorption dans un large domaine compris entre 450 et 600 nm avec en particulier un maximum dans le vert (520 nm) responsable de la couleur rouge de ce type de vin. Les variations de forme et d'intensité de cette absorption entraînent les variations de teintes couvrant toutes les nuances des vins rosés et rouges. Une liste non-exhaustive des différentes teintes des vins rouges est présentée dans le Tableau II-2.

Tableau II-2 : Les différentes teintes de vin rouge tirées de la page internet : <http://www.ceautsophia.com/site/Oenologie/Base/Bvinification.pdf>

	Teintes
1	1 : Rouge vermillon
2	2 : Rouge carmin
3	3 : Grenat
4	4 : Grenat profond
5	5 : Violacé
6	6 : Violacé intense
7	7 : Profond violet-noir
8	8 : Grenat tuilé

L'étude de la teinte et de l'intensité colorante du vin est particulièrement intéressante pour les vins macérés. La couleur étant obtenue essentiellement par extraction des anthocyanes contenus dans la peau du raisin, l'intensité de la couleur dépend principalement du degré de maturation, de la durée et de la température de cuvaïson. Jeunes, les vins rouges possèdent ainsi une teinte violacée qui va évoluer dans le temps pour virer vers le grenat tuilé. Les rapports des densités optiques mesurées à 420 (DO420), 520 (DO520) et 620 nm (DO620) sont caractéristiques des différents types de vins [42]. En effet, ces densités optiques dans le visible permettent actuellement de déterminer la couleur du vin par son intensité colorante ($IC = DO420 + DO520 + DO620$) et sa teinte ($T = DO420 / DO520$) [43]. L'absorption à 280 nm permet de doser la composition phénolique totale, sans distinction ni plus de précision.

Les normes reconnues par l'OIV dans le domaine de la spectroscopie d'absorption UV-visible n'exploitent pas tout le potentiel de cette méthode. En effet, caractériser les vins à l'aide de quatre longueurs d'onde paraît simpliste car le vin ne se définit pas seulement par sa teinte, sa couleur et une composition globale en composants phénoliques. Ainsi plusieurs travaux de la littérature traitent de la discrimination des vins par absorption UV-visible en analysant l'ensemble du spectre [44][45].

II.2 Absorption infrarouge

Dans le domaine du rayonnement à des longueurs d'onde bien supérieures à 1 μm , l'absorption des photons est liée aux transitions entre les niveaux d'énergie vibrationnels des molécules (Tableau II-3) :

- Dans le moyen infrarouge (noté MIR), domaine 2,5 - 100 μm , le rayonnement incident pourra sonder les transitions vibrationnelles dans le niveau fondamental électronique de la molécule,
- l'interaction rayonnement-matière dans le domaine du proche infrarouge (noté PIR) qui s'étend de 0,8 à 2,5 μm , les faibles absorptions du rayonnement seront liées essentiellement aux secondes harmoniques et certaines combinaisons des vibrations fondamentales.

Tableau II-3 : Les domaines et les types de spectroscopie infrarouge

	Abréviation	Domaine	Type de spectroscopie
Proche infrarouge	PIR	0,8 à 2,5 μm	vibrationnelle seconde harmonique
Moyen infrarouge	MIR	2,5 à 100 μm	vibrationnelle fondamentale

Ces spectroscopies d'absorption sont de plus en plus utilisées pour étudier les vins. En effet, les progrès de ces dernières années dans la miniaturisation et la simplicité d'utilisation des spectromètres d'absorption infrarouge sont à l'origine du succès croissant de ces techniques. Le milieu vitivinicole utilise principalement ces techniques couplées à la chimiométrie dans le but de doser des composants (sucre, alcool, acidité totale...) [46][47] ou suivre en ligne le procédé de vinification à travers l'évolution de la fermentation [48]. Ainsi, les spectroscopies optiques utilisées sont principalement dédiées à l'analyse et au dosage de molécules spécifiques. Quelques recherches ont également pour but la caractérisation des vins pour établir des différences entre eux ; c'est le cas de l'étude sur différents cépages réalisée par exemple en Grèce [49] et en Australie [50].

II.2.1 Absorption moyen infrarouge (MIR)

Pour illustrer l'apport de la spectroscopie d'absorption MIR, des mesures sont réalisées sur les trois types de vins par réflexion totale atténuée (ATR, voir annexe 1) et sont présentées Figure II-3. L'attribution des bandes les plus intenses est reportée dans le Tableau II-4 :

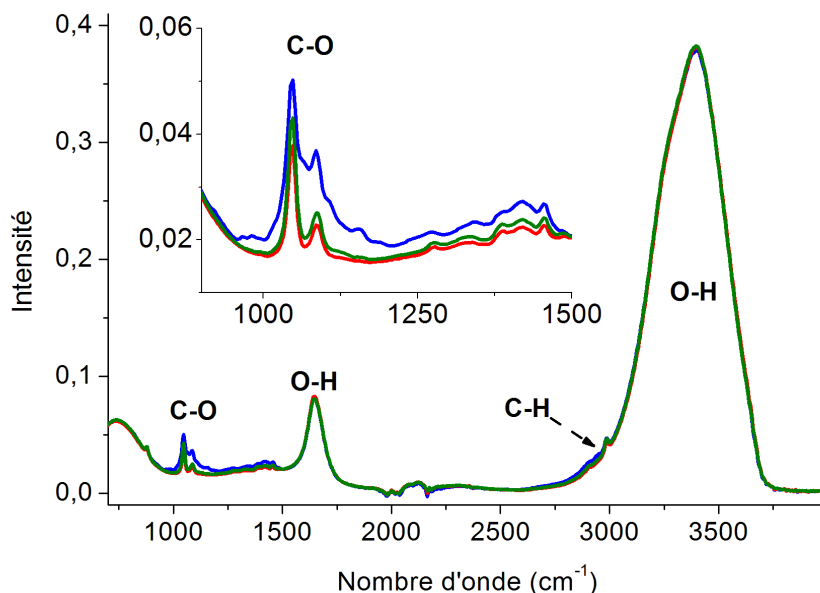


Figure II-3 : Spectre d'absorption MIR en ATR du vin rouge (rouge) et des vins blancs sec (vert) et moelleux (bleu)

Tableau II-4 : Attribution des bandes du vin en MIR [51]

MIR (cm ⁻¹)	Mode de vibration	Origine principale
1044-1085	Déformation des liaisons C-O-H	éthanol
1288 à 1427	Elongations des liaisons C-C, Déformation des liaisons HOC, HCC ...	
1636	Déformation des liaisons H-O-H	eau
2914-2985	Elongations des liaisons C _{sp3} -H	éthanol
3300	Elongations des liaisons O-H	eau

Les spectres ATR des trois vins semblent à première vue très proches. Dans le domaine 900 - 1500 cm⁻¹, le spectre du vin blanc moelleux présente de nettes différences par rapport à ceux du vin blanc sec et du vin rouge. En effet, ce domaine est largement exploité par des méthodes de chimiométrie [52][53] pour doser en moyen infrarouge les sucres, l'éthanol et certains acides organiques (acides malique, tartrique, citrique, acétique et lactique). Pour cela, des spectres de solutions modèles d'alcools, de sucres et d'acides de concentration de l'ordre du g/L sont réalisés en moyen infrarouge pour permettre la calibration des modèles statistiques [52][53].

Cette méthode d'analyse est quantitative, ainsi les très faibles variations observées entre les spectres sont significatives. Or, comme nous pouvons le constater les différences entre les spectres correspondent à de très faibles variations d'absorbance. Les études des vins par FTIR couplées à des méthodes statistiques d'analyse chimiométrique ont été utilisées pour discriminer des vins [50].

II.2.2 Absorption proche infrarouge (PIR)

La spectroscopie d'absorption proche infrarouge permet quant à elle d'observer principalement les harmoniques et les combinaisons des modes d'élongation des groupements O-H et C-H. Les spectres des trois vins sont représentés Figure II-4 et l'attribution des principales bandes observées est donnée dans le Tableau II-5, suivant les travaux de D. Cozzolino [44] :

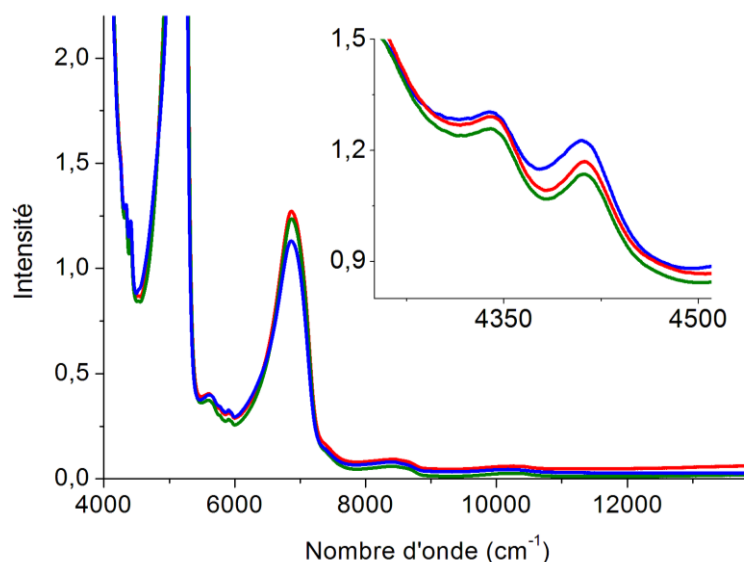


Figure II-4 : Spectre d'absorption PIR avec un chemin optique de 1cm du vin rouge (rouge), et des vins blancs sec (vert) et moelleux (bleu)

Tableau II-5 : Attribution des bandes du vin en PIR

PIR (cm^{-1})	PIR (nm)	Mode de vibration
4341	2305	Harmonique des C-H
4413	2266	Combinaison d'élongation O-H et C-H
5100	1950	Harmoniques d'élongation O-H de l'eau et de l'éthanol
5587	1790	Harmonique d'élongation des liaisons C-H aliphatiques
5915	1690	Harmonique d'élongation des liaisons C-H des méthyles
6870	1450	Harmonique d'élongation des liaisons O-H

Comme en spectroscopie MIR, les spectres semblent similaires, seules les intensités des bandes varient. La spectroscopie PIR a également été exploitée, couplée à la chimiométrie, pour discriminer les vins [54]. La spectroscopie d'absorption dans le proche ou le moyen infrarouge permet le dosage de nombreux composants à l'aide de la chimiométrie, mais il semble difficile de les identifier directement sur les spectres car ces deux méthodes d'analyse sont très sensibles à la présence de l'eau.

Dans ce contexte, il nous semble important d'évaluer le potentiel des techniques de spectroscopie d'émission de la lumière pour analyser les vins. Les spectroscopies induites par laser (émission de fluorescence et diffusion Raman) sont complémentaires aux spectroscopies d'absorption. L'émission de fluorescence est intrinsèquement liée aux propriétés d'absorption UV-visible et la diffusion Raman permet la mise en avant d'autres modes de vibration que ceux observés en FTIR.

II.3 Spectroscopie induite par « laser »: Raman et fluorescence

Comme nous l'avons vu précédemment, les spectres de diffusion Raman et d'émission de fluorescence se superposent le plus souvent. En effet, ces deux phénomènes résultent de l'interaction d'une lumière monochromatique avec la matière. La Figure I-5 schématise les différents spectres obtenus par un spectromètre d'absorption UV-visible (noir) et par un spectromètre Raman. Cette dernière spectroscopie permet d'enregistrer simultanément la diffusion Raman dont le domaine est défini par les rectangles et l'émission de fluorescence (représenté par les courbes). Or la section efficace de la diffusion Raman ($\sigma_{\text{raman}} \approx 10^{-30} \text{ cm}^2$) est bien inférieure à celle de la fluorescence ($\sigma_{\text{fluorescence}} \approx 10^{-18} \text{ cm}^2$) [55] ainsi la fluorescence peut cacher les pics Raman.

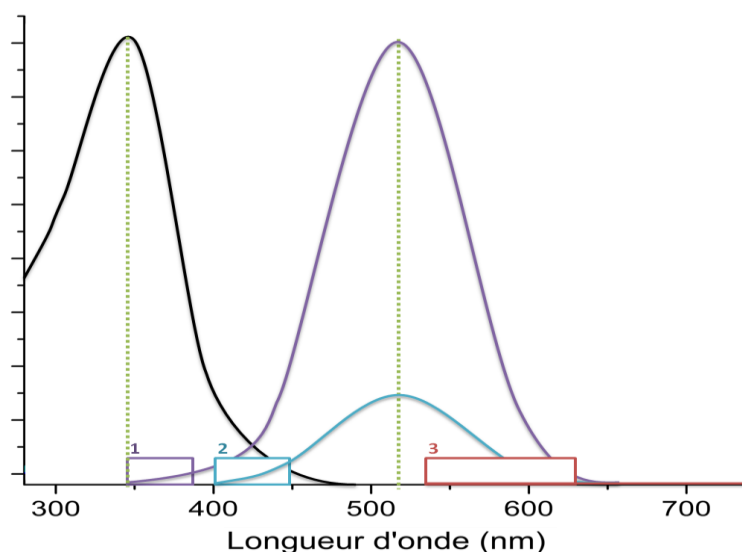


Figure II-5: Schéma virtuel des spectres d'absorption UV-visible (noir), fluorescence (violet, bleu, rouge) et les domaines de diffusion Raman (rectangles)

Dans la Figure II-5, le spectre d'absorption UV-visible va contribuer à définir les longueurs d'onde d'excitation pour lesquelles de l'émission de fluorescence est attendue. Ainsi, pour une excitation au maximum d'absorption UV-visible (ici 350 nm), une émission de fluorescence intense est observée comme par exemple sur la Figure II-5 vers 520 nm. En effet, la fluorescence est intrinsèquement liée à l'absorption UV-visible, se traduisant par un déplacement de Stokes c'est-à-dire la différence entre le maximum d'absorption et celui d'émission de fluorescence. La position du maximum de fluorescence est toujours la même pour une espèce moléculaire déterminée et ne dépend pas de la longueur d'onde d'excitation. C'est ce que nous avons représenté dans l'exemple de la Figure II-5, où pour les excitations à 350 nm et 400 nm, le maximum de fluorescence est dans les deux cas situé à 520 nm. Mais, l'intensité de fluorescence observée pour une excitation à 400 nm est plus faible que celle à 350 nm. En excitant l'échantillon pour une longueur d'onde supérieure à 500 nm, soit à des longueurs d'onde ne présentant pas d'absorption UV-visible, il n'y a plus de fluorescence.

En revanche, les pics Raman attribués aux vibrations moléculaires ont des déplacements Stokes constant quelle que soit la longueur d'onde d'excitation. Il en résulte que si l'échantillon est irradié à une longueur d'onde dans le domaine où il présente une absorption, l'émission de fluorescence et la diffusion Raman vont se superposer. Ainsi, plus le déplacement Stokes de la fluorescence est grand et plus il sera possible d'extraire un signal Raman du fond de fluorescence.

C'est ce que nous avons schématisé dans la Figure II-5 à travers les domaines Raman 1 et 2 pour deux longueurs d'onde d'excitation différentes. Evidemment, le domaine Raman 3 sur la Figure II-5 présentera uniquement la diffusion Raman puisque l'échantillon est transparent dans ce domaine de longueur d'onde. Depuis toujours les expérimentateurs cherchent à minimiser l'intensité de la fluorescence émise qui est défavorable à l'obtention de spectres Raman bénéficiant d'un rapport élevé signal/bruit. Or, l'intensité du signal Raman dépend de la longueur d'onde d'excitation utilisée qui est proportionnelle à l'inverse de la longueur d'onde à la puissance 4. Il faut ainsi trouver un juste milieu entre une émission de fluorescence la plus faible possible et un signal Raman intense. Quoiqu'il en soit l'émission de fluorescence semble également porteuse d'informations intéressantes complémentaires à la diffusion Raman

Nous disposons de nombreuses sources laser au laboratoire, dont les longueurs d'onde vont de l'ultra-violet à l'infrarouge, pour réaliser des mesures de diffusion Raman et d'émission de fluorescence induites par laser. Nous allons donc tout d'abord nous intéresser, pour plusieurs longueurs d'onde d'excitation, aux spectres d'émission de fluorescence avant d'étudier plus précisément les pics de diffusion Raman.

II.3.1 Maximum d'intensité de fluorescence

Nous commencerons par étudier les vins blancs qui présentent manifestement des spectres d'absorption UV-visible d'une composition chimique plus simples que ceux des vins rouges.

II.3.1.1 Les vins blancs

Pour les vins blancs, l'absence de composés colorants du type flavonoïdes entraîne une absorption limitée dans le visible (Figure II-2). Les spectres d'absorption UV-visible des vins blancs présentent deux bandes importantes avec des maxima vers 270 et 330 nm. Nous disposons au laboratoire de lasers émettant dans l'UV à 325 nm. Nous présenterons ici qualitativement les résultats des mesures réalisées pour cette excitation dans la Figure II-6.

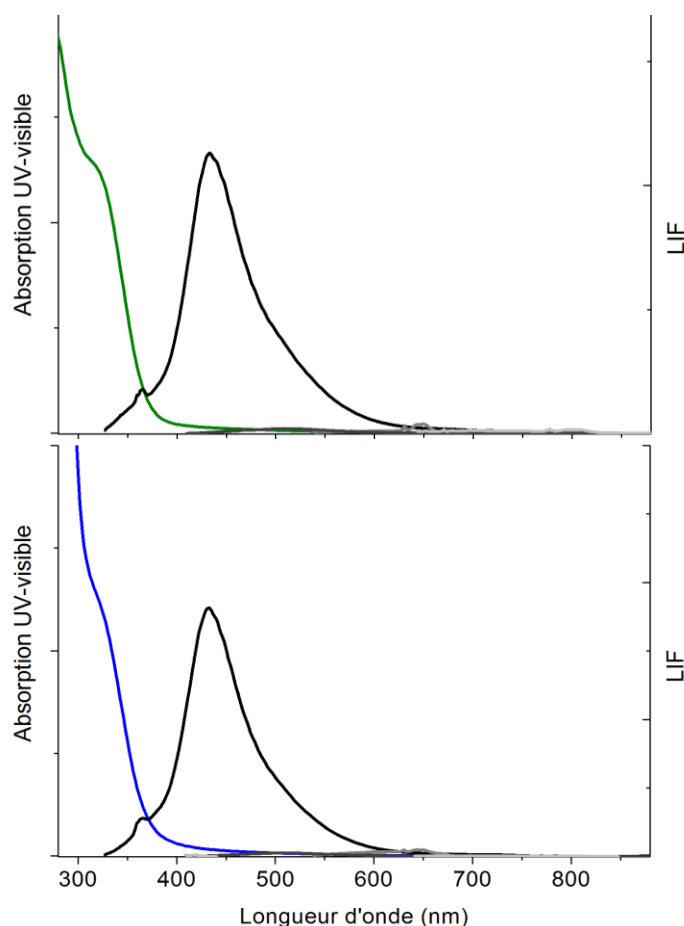


Figure II-6 : Spectre d'absorption UV-visible et de LIF des vins blancs sec (vert) et moelleux (bleu)

Pour une excitation à 325nm, nous constatons la présence de bandes de fluorescence à 432 nm pour le vin blanc moelleux et 433 nm pour le vin blanc sec. Les molécules absorbant à 325 nm appartiennent donc à la même famille pour les deux types de vins blancs et semblent correspondre à priori aux acides phénoliques de la famille des acides hydroxycinnamiques [56]. Bien que nos mesures ne puissent prétendre être quantitatives, nous avons noté une absorption UV-visible et une émission de fluorescence bien plus importante pour le vin blanc moelleux que pour le vin blanc sec. Cette intensité de fluorescence pourrait éventuellement être exploitée pour aider à différencier différents types de vins blancs.

Nous avons également effectué des tests avec un laser émettant à 260 nm (au LASIR à l'université de Lille 1), mais l'absorption très importante de la lumière à cette longueur ne nous a pas permis d'obtenir des résultats exploitables dans le temps imparti, vraisemblablement en raison de la dégradation de l'échantillon.

II.3.1.2 Le vin rouge

Pour le vin rouge, le spectre d'absorption UV-visible est complexe avec une émission de fluorescence également bien plus complexe et intense que celle observée pour les vins blancs. Pour chaque longueur d'onde d'excitation des espèces moléculaires particulières absorbent le rayonnement et peuvent donc émettre de la fluorescence. Ainsi sont représentés sur la Figure II-7, les spectres d'absorption UV-visible et de fluorescence induite par laser d'un vin rouge. Les profils

des spectres d'émission de fluorescence diffèrent nettement selon la longueur d'onde d'excitation. Les longueurs d'onde d'excitation et les positions de maxima de fluorescence induite sont reportées dans le Tableau II-6. Manifestement, ce ne sont pas les mêmes espèces moléculaires qui fluorescent à ces longueurs d'onde.

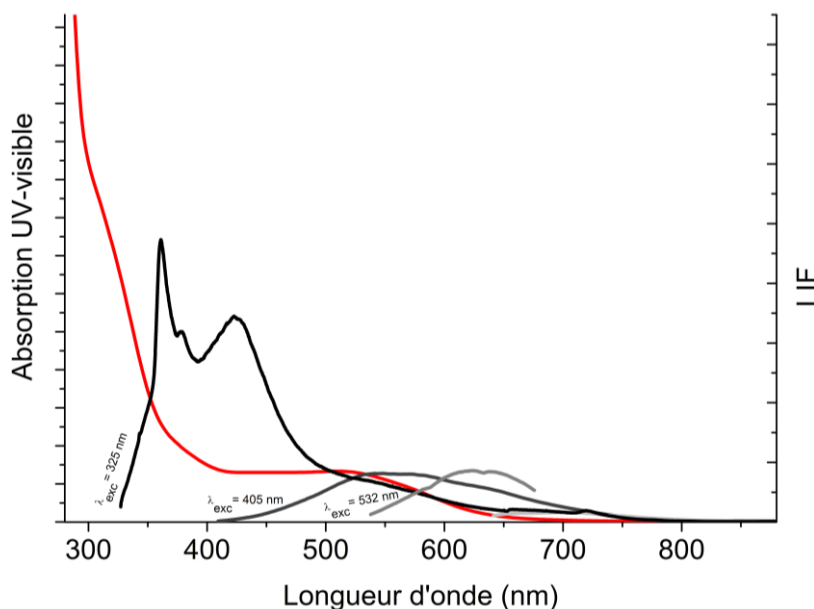


Figure II-7 : Spectre d'Absorption UV-visible et de LIF du vin rouge

Tableau II-6 : Rapport entre les longueurs d'onde d'excitation et d'émission pour la fluorescence du vin rouge

Absorption (nm)	Fluorescence (nm)
325	361
	378
	422
405	530-570
532	620-640

Avec une excitation à 325 nm, le spectre d'émission de fluorescence présente des maxima à 361, 378 et 422 nm. Il est possible qu'au moins trois familles de composés absorbent à 325 nm. A l'aide de la publication de Rodriguez-Delgado et al. de 2001 [56], nous pouvons faire l'hypothèse que les bandes de fluorescence sont dues dans l'ordre à des flavanols (vers 360 nm), à des stilbènes (vers 380 nm) et à des acides hydroxycinnamiques vers 420 nm. Cette troisième bande de fluorescence se retrouve dans les vins blancs. Ces trois maxima de fluorescence pour la même longueur d'onde d'excitation apportent probablement une information discriminante pour les vins rouges.

Pour des excitations laser à 405 nm et 532 nm, nous obtenons une fluorescence large avec respectivement des maxima vers 550 nm et 630 nm. Ils sont certainement dus aux molécules colorantes du vin telles que les flavonoïdes. Ces deux maxima peuvent être dus soit à deux types de familles de composés différentes, soit aux mêmes composés mais présents sous plusieurs formes en équilibre. La spectroscopie de fluorescence induite par laser est donc une technique prometteuse pour l'étude des vins et plus particulièrement pour les vins rouges.

II.3.2 Diffusion Raman

En diffusion Raman, les différences entre les nombres d'onde des rayonnements diffusés et excitateurs aux maxima des raies observées correspondent aux nombres d'onde associés aux vibrations moléculaires. Les spectres des trois types de vins ont été obtenus à six longueurs d'onde d'excitation allant de l'ultraviolet à l'infrarouge, soient 325, 405, 532, 633, 785 et 830 nm.

II.3.2.1 Les vins blancs

Nous constatons sur la Figure II-8 que les vins blancs présentent un fond de fluorescence dont l'intensité et la pente changent suivant la longueur d'onde de travail et que des pics de diffusion Raman sont visibles pour chacune de ces excitations. Dans un premier temps, nous examinerons la fluorescence, pour nous concentrer sur les pics de diffusion Raman par la suite.

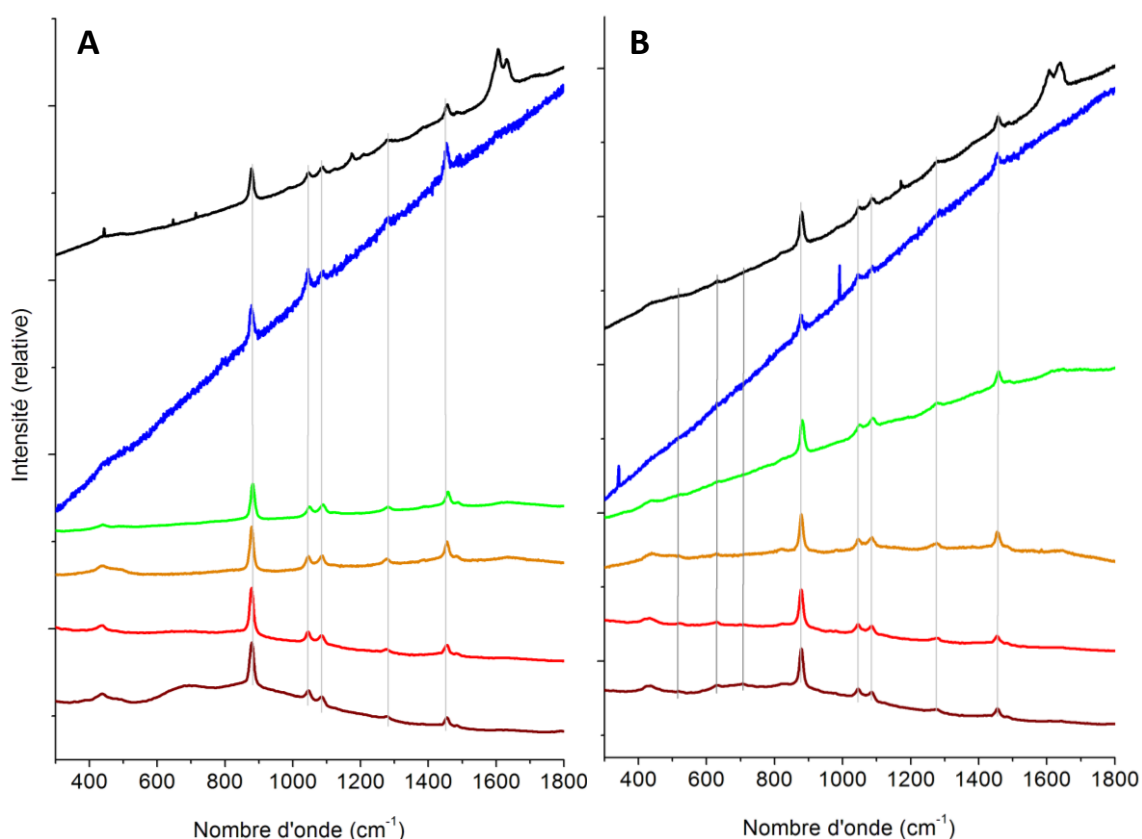


Figure II-8 : Spectre Raman des vins blanc sec (A) et moelleux (B) pour les longueurs d'onde 325 nm (noir), 405 nm (bleu), 532 nm (vert), 633 nm (orange), 785 nm (rouge) et 830 nm (marron)

Rappelons que les vins blancs n'absorbent pratiquement pas le rayonnement pour des longueurs d'onde d'excitation supérieures à 500 nm. Pour le vin blanc sec, nous remarquons l'absence de fluorescence pour les spectres obtenus avec des excitations supérieures à cette valeur alors que pour le vin moelleux, la faible émission de fluorescence observée traduit l'existence de très faibles quantités de polyphénols absorbant à 532 nm. Dans le proche infrarouge, à 830 nm, nous observons une faible luminescence vers 600 – 800 cm⁻¹. Elle est due au verre sodo-calcique des tubes RMN que nous utilisons et qui contient des ions Fe²⁺. La pente du fond de fluorescence pour une excitation à 325 nm est plus faible que celle du spectre obtenu à 405 nm. Cet effet est dû au déplacement Stokes de fluorescence plus grand pour une excitation à 325 nm qu'à 405 nm, que nous

avons schématisé Figure II-5. Pour des longueurs d'onde d'excitation supérieures à 532 nm, les spectres Raman sont semblables et pratiquement identiques à celui d'une solution d'eau et d'éthanol (Figure II-9).

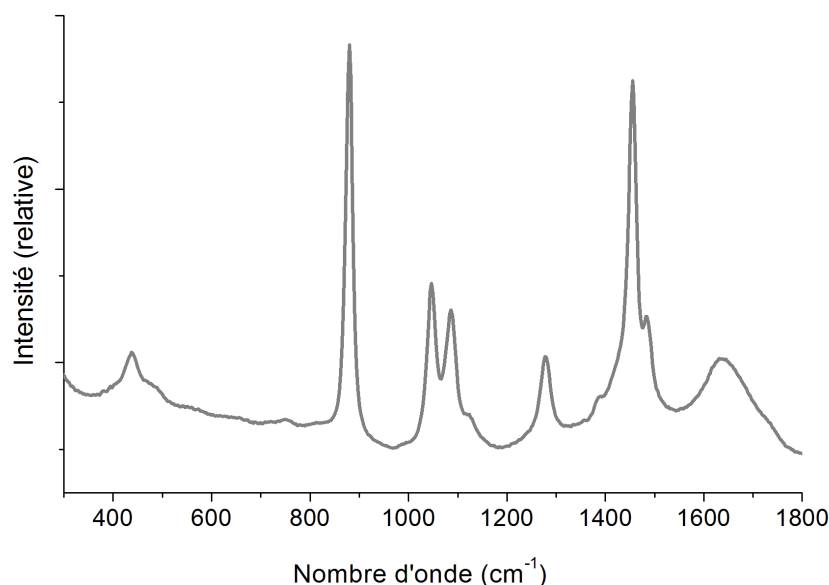


Figure II-9 : Spectre Raman d'une solution d'eau et d'éthanol (88:12) à 532 nm

Nous retrouvons ces mêmes pics Raman pour les spectres enregistrés avec des excitations à 325 et 405 nm et qui présentent également un fond de fluorescence. Or, le spectre Raman d'excitation à 325 nm présente des pics supplémentaires comparé aux spectres obtenus aux autres longueurs d'onde de la Figure II-9. Ces nouveaux pics sont dus à l'exaltation du signal par effet Raman de résonance. Ce phénomène intervient lorsque l'énergie du rayonnement incident est voisine d'une transition électronique de la molécule étudiée. Le niveau virtuel Raman va dans ce cas être proche d'un niveau électronique excité et entraînera une exaltation du signal [57]. Ce processus est schématisé dans la Figure II-10. Les pics de Raman de résonance sont fortement exaltés (jusqu'à un facteur 10^6) par rapport à l'intensité des raies de diffusion Raman classique.

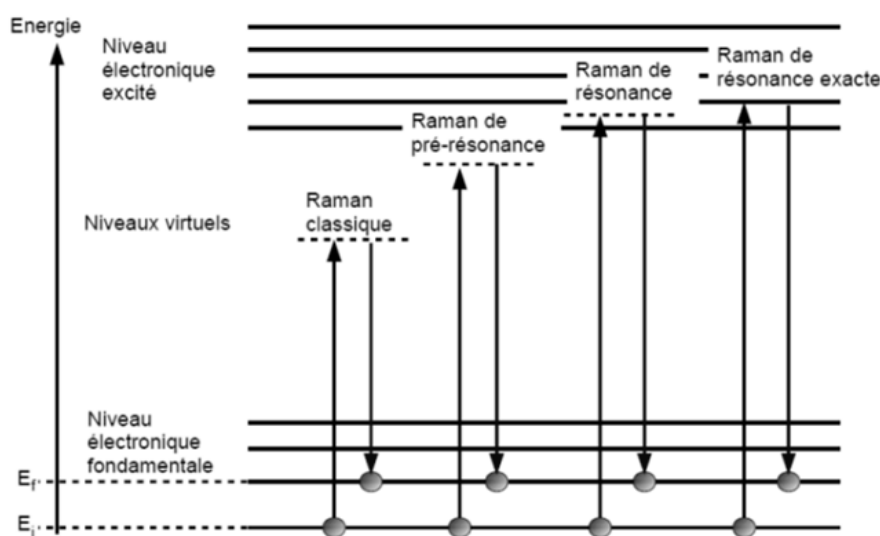


Figure II-10 : Diagramme énergétique des différentes transitions intervenant dans l'effet Raman de résonance [58][59].

Les vins blancs secs présentent une absorption UV-visible vers 325 nm et une émission de fluorescence vers 430 nm attribuables aux acides phénoliques, qui pourraient donc être à l'origine de la diffusion Raman de résonance observée. Dans la Figure II-11, nous avons soustrait le fond de fluorescence du spectre Raman du vin blanc sec excité à une longueur d'onde de 325 nm. Nous constatons la présence de nombreux pics supplémentaires avec en particulier un doublet vers 1150 cm^{-1} et un ensemble de raies très intenses vers 1600 cm^{-1} .

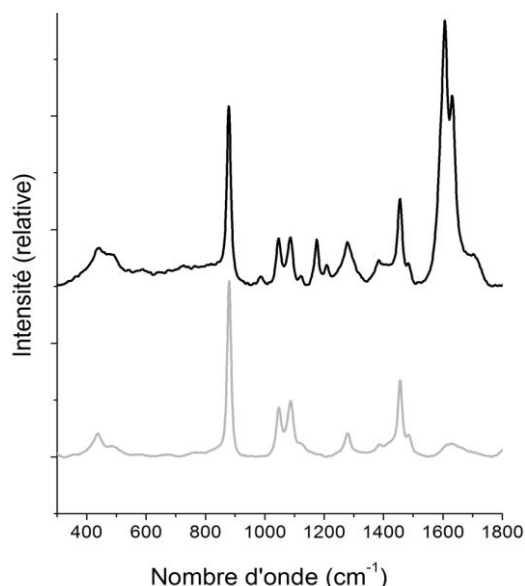


Figure II-11 : Spectres Raman des vins blanc sec pour les longueurs d'onde d'excitation de 325 nm (en noir après soustraction du fond de fluorescence) et 532 nm (gris)

Les spectres Raman à 325 nm et 532 nm du vin blanc moelleux corrigés de la fluorescence sont reportés dans la Figure II-12. Nous retrouvons l'exaltation du signal par Raman de résonance pour une excitation à 325 nm, comme pour le vin blanc sec. On notera cependant que les spectres Raman de résonance des vins blancs sec et moelleux ne sont pas identiques. Par ailleurs, d'autres pics Raman sont également observables dans le domaine 400 - 900 cm^{-1} , ce qui n'était pas le cas pour le vin sec. Ces pics Raman proviennent vraisemblablement des mono-glucides (glucose et fructose) présents dans ce type de vin.

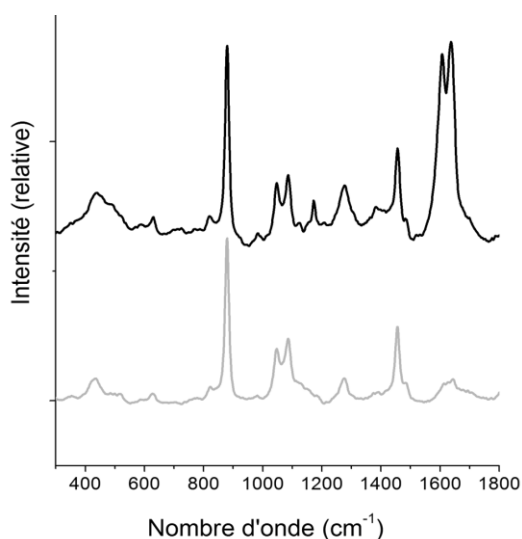


Figure II-12 : Spectre Raman avec soustraction du fond de fluorescence du vin blanc moelleux pour les longueurs d'onde 325 nm (noir) et 532 nm (gris)

Les pics de Raman de résonance ont donc des profils distincts pour les deux types de vins. Ainsi, par exemple vers 1175 cm^{-1} , le vin blanc sec présente un doublet alors que le vin blanc moelleux un simple pic moins intense. Vers $1600 - 1630\text{ cm}^{-1}$ nous observons un massif composé de plusieurs raies très intense dont le profil est différent pour les deux vins blancs. Manifestement la spectroscopie Raman semble être une méthode analytique prometteuse non seulement pour différencier des vins blancs entre eux mais également pour identifier les espèces moléculaires dont l'intensité diffusée est exaltée par effet de résonance électronique.

Cette analyse préliminaire réalisée sur deux vins blancs montre que la fluorescence induite par le laser ne semble pas problématique pour l'étude de la diffusion Raman. Par ailleurs, les spectres Raman des acides phénoliques et des sucres sont nettement observables. Le chapitre II traitera de solutions modèles de ces familles de molécules.

II.3.2.2 Le vin rouge

Les spectres d'émission du vin rouge en fonction de la longueur d'onde d'excitation sont présentés dans la Figure II-13.

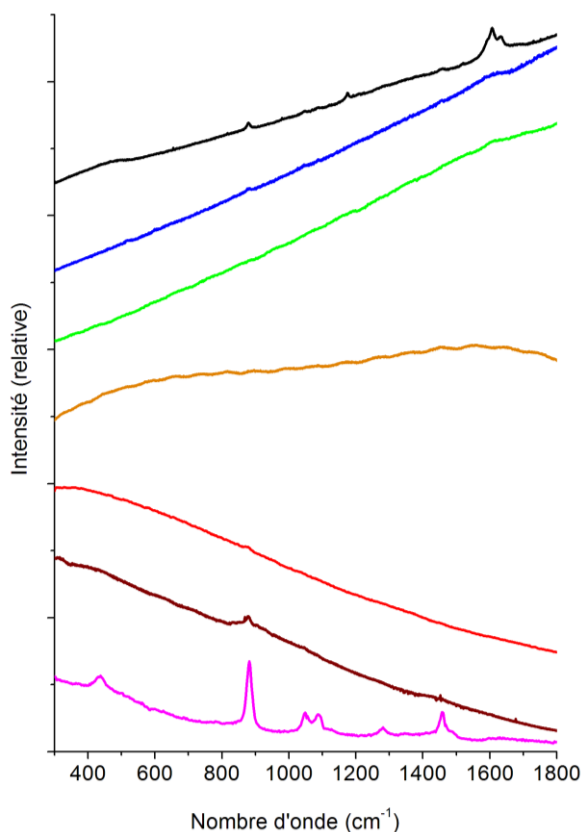


Figure II-13 : Spectre Raman des vins rouges pour les longueurs d'onde 325 nm (noir), 405 nm (bleu), 532 nm (vert), 633 nm (orange), 785 nm (rouge), 830 nm (marron) et 1064 nm (rose)

Manifestement et comme attendu, l'émission de fluorescence est très intense à l'exception du spectre obtenu avec une excitation dans le proche infrarouge à 1064 nm. Pour cette dernière longueur d'onde d'excitation nous retrouvons les pics Raman dus à l'eau et l'éthanol. Avec une excitation de 325 nm, nous observons aussi un spectre Raman de résonance avec en particulier le massif intense vers 1600 cm^{-1} . L'origine de cette résonance est donc vraisemblablement la même

que pour les vins blancs, c'est-à-dire aux acides phénoliques de la famille des acides hydroxycinnamiques et éventuellement des acides hydroxybenzoïques. Pour toutes les autres longueurs d'onde d'excitation que nous avons testées, la fluorescence est beaucoup trop intense pour qu'un signal Raman puisse être observé.

III La stratégie proposée

Dans ce chapitre, nous avons vu dans un premier temps les transformations que subissent la vigne et son fruit au cours d'une année du point de vu morphologique et chimique. Les méthodes de vinification utilisées pour transformer le raisin en vin nous ont permis d'identifier plusieurs familles chimiques entrant dans la composition du vin. Le vin, bien qu'essentiellement constitué d'eau et d'éthanol, est également composé de sucres, d'acides organiques, d'un grand nombre de composés phénoliques (acides, anthocyanes et tanins) et de bien d'autres substances.

L'étude préliminaire des trois vins présentée dans la seconde partie de ce chapitre a permis de mieux appréhender les informations extractibles à partir des méthodes actuellement utilisées dans la filière du vin telles que les absorptions dans l'UV-visible ou dans l'infrarouge. La spectroscopie d'émission induite par laser, incluant la fluorescence et la diffusion Raman, est à notre connaissance très largement sous-exploitée dans l'univers vinicole. Nous avons vu cependant que des informations nouvelles sont accessibles sur la composition chimique des vins, avec potentiellement la possibilité d'identifier et de caractériser les sucres, les acides phénoliques et peut-être d'autres polyphénols comme les tanins ou les anthocyanes.

Tout d'abord, il paraît indispensable d'attribuer les signaux obtenus à des familles moléculaires spécifiques, que ce soit en absorption UV-visible, en fluorescence induite par laser ou en diffusion Raman. Pour cela, nous allons dans un premier temps travailler avec des systèmes plus simples que le vin, mais représentatifs des familles moléculaires attendues. Le vin étant constitué d'environ 95 % en volume d'eau, d'éthanol et d'acide tartrique, il semble raisonnable de travailler avec un tel solvant que nous appellerons « solution mère ». Ainsi, l'étude des grandes familles peut être réalisée à l'aide de solutions modèles afin d'attribuer les signaux observés dans les spectres des vins. Bien que le vin soit composé de plus de mille composés chimiques différents, il semblerait qu'un nombre limité de familles de molécules soit à l'origine de l'émission induite par une excitation laser. Au cours de l'étude préliminaire des trois vins, certaines hypothèses ont dû être faites pour interpréter les signaux observés. Ainsi, les spectres d'absorption UV-visible et de fluorescence induite par laser obtenus sur les vins blancs suggèrent qu'une étude plus complète des acides phénoliques doit être réalisée. Ces acides jouent un rôle important en œnologie. Les deux types de vins blancs étudiés présentent également des différences dans les spectres Raman principalement dans le domaine $400 - 850 \text{ cm}^{-1}$. Nous avons posé l'hypothèse que cela devait être directement relié aux sucres présents dans le vin. Dans le chapitre 2, nous nous consacrerons à comprendre l'origine des signatures optiques observées dans les vins blancs. Nous étudierons en détail les spectres d'acides phénoliques et de sucres sur la base de solutions modèles et en nous appuyant également sur des calculs de chimie quantique pour leur interprétation.

Dans le chapitre 3, nous étudierons plus précisément les autres signaux d'absorption UV-visible et d'émission induite par laser observés sur les spectres des vins rouges et qui sont à priori imputables aux flavonoïdes, famille de molécules responsables entre autres de la coloration des vins

rouges et rosés. Nous focaliserons notre étude sur l'analyse de solutions modèles d'anthocyanes, de flavan-3-ols (briques élémentaires des tanins de pépin ou de pellicule) et d'ellagitanin (bois de chêne) qui sont les composés phénoliques les plus présents dans le vin.

Une fois que les solutions modèles de ces familles de composés seront analysées à l'aide des trois techniques que sont l'absorption UV-visible, la fluorescence induite par laser et la diffusion Raman, nous devrions mieux comprendre l'origine de l'émission de la lumière dans les vins rouges et blancs et ainsi appréhender les informations optiques déterminantes pour caractériser et discriminer les vins. Ainsi, dans le dernier chapitre, nous chercherons à évaluer le potentiel de cette technique pour divers types d'application. La première concerne le pouvoir discriminant de la méthode sur un panel de vins blancs et rouges. Le but sera de déterminer si les différents signaux émis après interaction avec un laser sont suffisamment caractéristiques pour permettre de distinguer rapidement un vin d'un autre. La seconde concerne l'intérêt de la spectroscopie Raman en chimie analytique pour non seulement identifier, mais également quantifier des espèces moléculaires. La troisième application concerne directement les fraudes et contrefaçons puisque la spectroscopie Raman peut également être exploitée pour analyser le contenant, c'est-à-dire la bouteille de vin, sa capsule et son étiquette. Nous verrons que dans certains cas des mesures rapides du contenu pourront être réalisées à travers le verre des bouteilles.

CHAPITRE 2 :

Etude en solutions modèles pour les vins blancs

I	Solution mère	54
I.1	L'absorption UV-visible	55
I.2	La fluorescence	55
I.3	La diffusion Raman	56
II	Etude des acides phénoliques	57
II.1	Protocole de calcul	58
II.2	L'absorption UV-visible	59
II.2.1	Acides hydroxycinnamiques libres	59
II.2.1.1	Acide caféique	60
II.2.1.2	Acide férulique	63
II.2.1.3	Acide sinapique	65
II.2.1.4	Acide p-coumarique	66
II.2.1.5	Conclusion	68
II.2.2	Acides hydroxycinnamiques liés : acide caftarique	69
II.2.3	Acide hydroxybenzoïque : acide gallique	71
II.2.4	Conclusion	73
II.3	La fluorescence	74
II.4	La diffusion Raman	76
II.4.1	Acides hydroxycinnamiques	76
II.4.1.1	Acide caféique	77
II.4.1.2	Acide férulique	79
II.4.1.3	Acide sinapique	80
II.4.1.4	Acide p-coumarique	81
II.4.2	Acide hydroxycinnamique lié : acide caftarique	83
II.4.3	Acide hydroxybenzoïque : acide gallique	85
II.5	Résumé des résultats obtenus	86
III	Etude des sucres	89
III.1	L'absorption UV-visible	89
III.2	La diffusion Raman	90
IV	Conclusion	94

Chapitre 2 : Etude en solutions modèles pour les vins blancs

L'équilibre du vin se spécifie par son « caractère », soit un subtil mélange entre qualités et défauts. Les sensations organoleptiques du vin peuvent être décrites par de nombreuses saveurs dont l'acidité et le goût sucré. Dans ce chapitre, nous nous intéressons à deux familles de composés responsables de ces saveurs et que nous pensons être en grande partie à l'origine des spectres des vins blancs : les acides phénoliques et les sucres. Nous allons étudier les propriétés spectroscopiques de ces molécules à partir de solutions modèles obtenues en dissolvant ces familles moléculaires dans une solution mère.

Dans un premier temps, nous nous intéresserons aux aspects physico-chimiques cette solution mère. Nous réaliserons par la suite différentes analyses de solutions modèles par spectroscopies d'absorption UV-visible, de fluorescence induite par laser et de diffusion Raman. L'analyse des spectres d'absorption et de diffusion Raman s'appuiera sur des calculs de chimie quantique. Nous nous consacrerons, dans un premier temps, aux solutions modèles d'acides phénoliques, plus précisément à plusieurs acides hydroxycinnamiques et un acide hydroxybenzoïque puis, dans un deuxième temps, nous étudierons des solutions modèles des glucides potentiellement présents dans le vin : le fructose, le glucose et le saccharose.

I Solution mère

Nous avons vu dans le chapitre 1 que le vin est une solution complexe qui comporte plus d'un millier de composés différents. En moyenne, le degré alcoolique des vins se situe autour de 12 ° et le pH est de 3,5. Ainsi l'eau, l'éthanol, l'acide tartrique et éventuellement les sucres représentent à eux seuls plus de 95 % en masse de la composition chimique du vin. Les autres éléments sont présents en très faible quantité avec des concentrations allant de quelques mg/L à quelques dizaines de pg/L. Certains éléments ne sont pas encore quantifiés, voir non identifiés. Leur concentration très faible est inférieure ou à la limite des seuils de détection des appareils utilisés.

La réalisation d'un vin artificiel à partir de produits chimiques du commerce dont tous les constituants sont connus et quantifiés est donc actuellement impossible. Il est préférable pour l'étude des différentes familles de composés de travailler dans des conditions proches de celles rencontrées dans le vin. La solution mère est réalisée dans le but d'être utilisée comme solvant lors de nos études des différents composants, nous permettant ainsi de les étudier dans des conditions proches de celles rencontrées dans le vin.

La solution mère représentative du vin est constituée :

- d'eau milli-Q,
- de 12 % volumique d'éthanol absolu pur à $\geq 99,8$ % de la société Sigma-Aldrich,
- de 5 g/L d'acide tartrique pur à $\geq 99,7$ % de la société Sigma-Aldrich,
- de quelques gouttes d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium pur à $\geq 99,9$ % de la société Sigma-Aldrich, dans le but d'ajuster le pH de la solution autour de 3,5.

Pour comprendre toutes les informations obtenues grâce aux différentes solutions modèles étudiées, il faut au préalable étudier les différentes réponses spectroscopiques de la solution mère.

I.1 L'absorption UV-visible

Comme nous l'avons vu dans le chapitre 1.II.1, l'analyse des spectres d'absorption UV-visible est un préalable indispensable pour mieux comprendre l'origine de l'émission induite par laser. En effet, cette analyse nous permet de prédire l'émission de fluorescence qui est en compétition avec la diffusion Raman lors d'une excitation par laser pour des longueurs d'onde allant de l'ultra-violet au proche infrarouge.

Les mesures d'absorption UV-visible sont réalisées dans les mêmes conditions que celles décrites dans le chapitre 1 pour le vin, c'est à dire avec le spectromètre UV-visible Lambda 650UV de Perkin-Elmer dans des cellules de 1 mm. La solution de référence utilisée est de l'eau milli-Q. Le domaine d'étude s'étend de 190 à 800 nm, les spectres sont enregistrés avec un pas de 2 nm et un temps d'acquisition par point de 0,4 s.

La solution mère absorbe le rayonnement dans l'UV, à des longueurs d'onde inférieures à 245 nm, comme il est observable dans la Figure I-1.

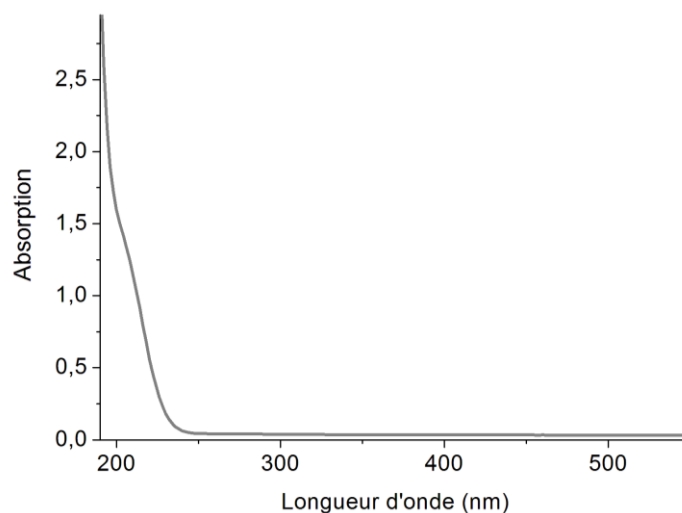


Figure I-1 : Spectre d'absorption UV-visible de la solution mère

Dans ce travail, les mesures d'émission de la lumière des solutions modèles seront réalisées à des longueurs d'onde supérieures à 245 nm, c'est-à-dire dans le domaine de transparence de la solution mère.

I.2 La fluorescence

Les spectres d'émission enregistrés à l'aide du spectrofluorimètre Fluorolog-2 SPEX (voir annexe 2) pour des excitations à 290 nm, 305 nm et 325 nm sont reportés Figure I-2. Les pics observés notés (a), (b) et (c) sont dus à la diffusion Raman. Aucune émission de fluorescence n'est donc observée pour la solution mère pour des longueurs d'onde d'excitation supérieures à 245 nm.

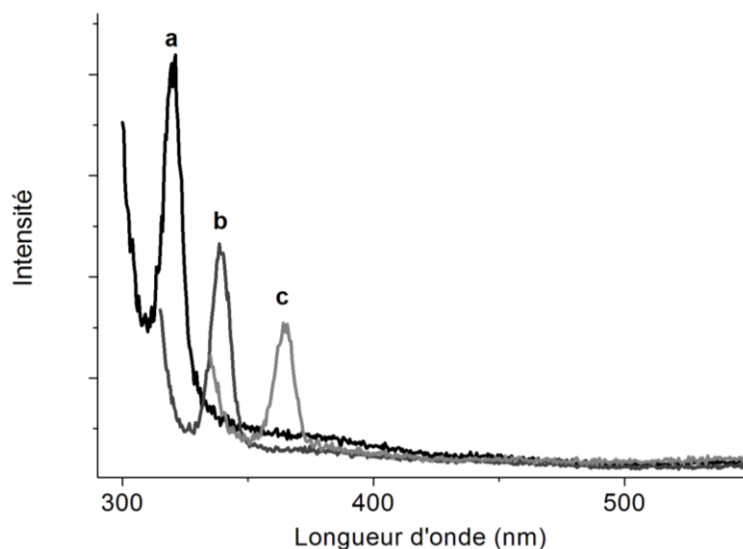


Figure I-2 : La fluorescence pour des excitations à 290 nm (a), 305 nm (b) et 325 nm (c) de la solution mère

I.3 La diffusion Raman

Comme attendu, les spectres Raman obtenus au laboratoire pour des longueurs d'onde d'excitation entre 325 et 1064 nm ne présentent pas de fond de fluorescence. Par exemple, le spectre Raman de la solution mère présenté sur la Figure I-3, obtenu avec une longueur d'onde d'excitation de 532 nm, est exempt de toute émission de fluorescence et présente les raies caractéristiques de l'eau et de l'éthanol, comme décrit dans le chapitre 1.II.3.2.1.

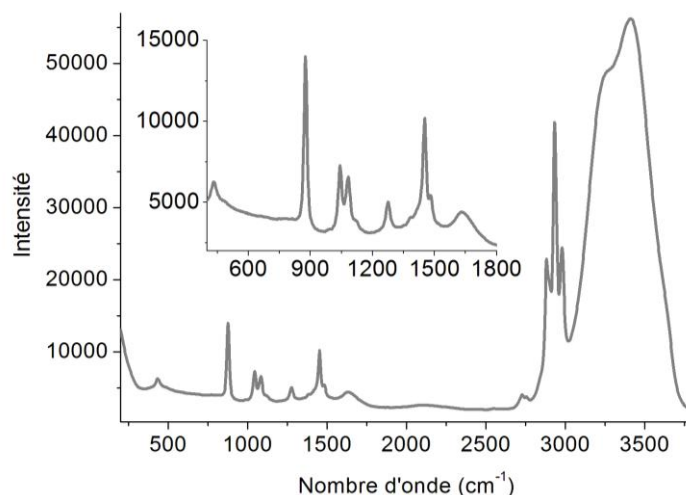


Figure I-3 : Spectre Raman de la solution mère à 532 nm

Il est important de souligner que la concentration en acide tartrique de 5 g/L (0,033 mol/L) n'est pas suffisante pour que nous puissions discerner son spectre Raman dans celui de la solution mère. Nous avons résumé dans le Tableau I-1 l'attribution des raies Raman [60] observées dans la Figure I-3.

Tableau I-1 : Attribution Raman des pics de la solution mère

Shift Raman (cm ⁻¹)	Attribution	
437	Déformation de l'angle O-C-C	
880	Elongation des liaisons C-C et C-O	
1047	Elongation des liaisons C-C et C-O	
1087	Elongation de la liaison C-O	éthanol
1280	Déformation de l'angle H-O-C	
1455	Déformation de l'angle HOC et torsion H-C-C-H	
1484	Déformation des l'angle H-C-H	
1635	Déformation de l'angle H-O-H	eau
2880 - 2980	Elongation des liaisons C-H	éthanol
> 3000	Elongation des liaisons O-H	eau + éthanol

Les spectres d'absorption et de fluorescence des différentes solutions modèles qui seront étudiées par la suite ne seront donc dus qu'aux différentes espèces moléculaires ajoutées à la solution mère. La solution mère présente toutefois un spectre de diffusion Raman intense attribué aux molécules d'eau et d'éthanol. Ces raies Raman seront par conséquent toujours présentes dans les spectres des solutions modèles.

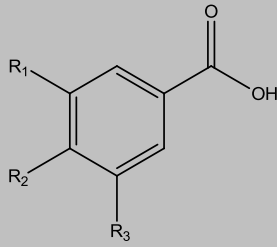
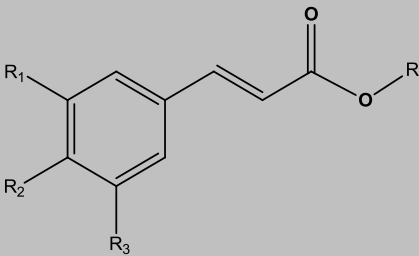
Nous allons maintenant étudier dans un premier temps les solutions modèles d'acides phénoliques puis, dans un second temps, celles des sucres.

II Etude des acides phénoliques

Dans le chapitre 1.II. intitulé « Les essais préliminaires de différentes spectroscopies optiques sur le vin », nous avons émis l'hypothèse que les spectres des vins blancs observés étaient vraisemblablement en grande partie attribuables aux acides phénoliques. Or, il existe seulement deux familles de ce type d'acides dans ces vins, les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques, avec des concentrations de 10 - 30 mg/L pour les vins blancs [31].

Ces deux familles de molécules présentent un groupement acide carboxylique et un cycle benzoïque. Elles se différencient par la présence d'une double liaison $-C=C-$ entre les deux groupements pour les acides hydroxycinnamiques. Le cycle présente dans les deux cas des substituants hydroxyles et/ou méthoxyles en position para et méta. Les acides hydroxycinnamiques [61] sont présents en faible quantité sous forme libre. Ils sont principalement estérifiés, majoritairement par l'acide tartrique présent dans les vins. L'acide caftarique (Figure II-14) est le plus important des acides phénoliques estérifiés. Il est présent avec des concentrations d'environ 21 mg/L [62][63] pour les vins blancs. Les principales molécules appartenant à ces familles d'acides sont listées dans le Tableau II-1 avec leur représentation de Fischer et leur concentration moyenne sous forme libre dans les vins blancs.

Tableau II-1 : Représentation des acides phénoliques majoritaires dans le vin avec les concentrations moyennes dans les vins rouges et blancs en mg/L tiré de <http://www.phenol-explorer.eu> [32]

Acide benzoïque					Acide cinnamiques	
						
Concentration mg/L	R ₁	R ₂	R ₃	R		Concentration mg/L
	H	OH	H	H	Acide p-coumarique	1,5
	H	OH	OH	H	Acide caféique	2,4
	H	OH	OCH ₃	H	Acide férulique	0,9
Acide gallique	2,2	OH	OH	OH		
		OCH ₃	OH	OCH ₃	Acide sinapique	0,6
		H	OH	OH	Acide caftarique	21,5

Dans cette partie, nous aborderons tout d'abord les acides hydroxycinnamiques qui sont vraisemblablement les acides phénoliques responsables de la diffusion Raman de résonance pour une excitation à 325 nm. Nous étudierons plusieurs représentants de cette famille, à savoir les acides caféique, férulique, para-coumarique et sinapique. Nous aborderons également l'étude de l'acide caftarique qui est la forme estérifiée de l'acide caféique et de l'acide tartrique. Puis, nous examinerons également l'autre famille des acides phénoliques à travers l'acide gallique. Toutes les solutions modèles de ces acides sont étudiées par absorption UV-visible, par fluorescence et par diffusion Raman avec une concentration d'environ 200 mg/L. Nous allons nous appuyer sur des calculs de chimie quantique pour interpréter les résultats expérimentaux. Nous allons donc dans un premier temps présenter les méthodes de calcul utilisées puis nous présenterons par la suite l'analyse combinée expérience/théorie.

II.1 Protocole de calcul

Les calculs de chimie quantique ont tout d'abord consisté à déterminer la géométrie la plus stable des composés dans leur état fondamental (c'est-à-dire correspondant au minimum de leur énergie) en utilisant la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) [7] telle qu'implémentée dans le logiciel Gaussian09⁶.

Les spectres d'absorption des composés ont été ensuite simulés en utilisant la DFT dépendante du temps (TD-DFT). Cette méthode est basée sur la théorie de la réponse linéaire et permet de déterminer les énergies et longueurs d'onde de transition vers les différents états électroniques excités du composé, ainsi que les dipôles de transition et forces d'oscillateur associés. Elle permet également d'analyser la nature des bandes d'absorption en termes de transitions

⁶ http://www.gaussian.com/g_tech/g09ur.htm

électroniques entre les différentes orbitales moléculaires (OM) du système, et donc de quantifier le transfert de charge photo-induit au sein du composé.

Les méthodes DFT (et a fortiori TD-DFT) reposent sur la résolution des équations de Kohn-Sham. Ces dernières sont basées sur la définition d'un potentiel effectif dont la partie décrivant les effets d'échange quantique et de corrélation électronique, appelée fonctionnelle d'échange-corrélation, n'a pas de formulation analytique exacte. De nombreuses approximations ont été proposées dans la littérature, dont la précision varie en fonction du type de composés considérés et de la nature des propriétés que l'on souhaite simuler. Avant de lancer des calculs systématiques, il a donc été nécessaire de déterminer la fonctionnelle la plus appropriée à la détermination des propriétés optiques des acides phénoliques considérés dans ce travail. Les performances de quatre fonctionnelles d'échange-corrélation ont été testées en confrontant les résultats des calculs quantiques aux spectres expérimentaux d'absorption UV-visible : B3LYP [8], MPW1K [9], M06-2X [11], et CAM-B3LYP [10]. Pour cette étude préliminaire, l'acide caféique a été utilisé comme système de référence, car il a déjà fait l'objet de plusieurs études théoriques dans des contextes différents. Ainsi des calculs couplés à l'absorption UV-visible ont été développés dans le cadre de la compréhension des mécanismes d'interaction avec des métaux [6].

Tous les calculs ont été effectués en utilisant la base de fonctions gaussiennes 6-311+g(d,p) intégrant des fonctions diffuses et des fonctions de polarisation. Cette base offre la flexibilité suffisante pour décrire finement la longue portée du nuage électronique et les transferts de charges entre atomes d'électronégativités différentes. Les données expérimentales étant obtenues en solution aqueuse, les effets de solvants ont été pris en compte en utilisant un modèle de continuum polarisable (PCM).

Après avoir déterminé la fonctionnelle la plus adaptée à notre étude, les propriétés optiques des acides phénoliques listés dans le tableau II-1 ont été étudiées et sont reportées dans la section suivante. Le même niveau de calcul a été utilisé pour simuler les spectres Raman des différents composés. Précisons que les modèles moléculaires que nous allons construire sont ceux des molécules neutres (non déprotonées) car le vin est un milieu acide.

II.2 L'absorption UV-visible

II.2.1 Acides hydroxycinnamiques libres

Dans cette partie, nous commencerons par étudier les quatre acides hydroxycinnamiques listés dans le Tableau II-1. Leurs spectres d'absorption UV-visible sont représentés normalisés par rapport aux maxima de leur intensité dans la Figure II-1. Chacun de ces acides présente un spectre d'absorption UV-visible spécifique avec des maxima et des rapports d'intensité caractéristiques. Dans un souci de clarté, les études de ces quatre acides sont présentées séparément.

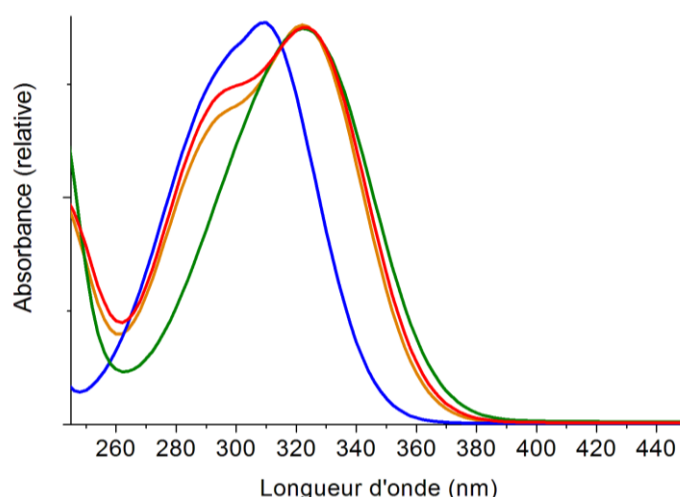


Figure II-1: Spectres d'absorption UV-visible de l'acide p-coumarique (bleu), de l'acide caféique (rouge), de l'acide férulique (orange) et de l'acide sinapique (vert)

II.2.1.1 Acide caféique

L'acide caféique est l'acide hydroxycinnamique le plus présent sous forme libre dans le vin blanc avec 2,4 mg/L en moyenne. Il comporte deux groupements hydroxyles : l'un en position para et l'autre en position méta par rapport au groupement acrylate. Comme mentionné dans le paragraphe précédent, l'acide caféique nous servira de référence pour déterminer la fonctionnelle la plus adaptée au calcul des spectres UV/Visible des acides phénoliques.

La structure moléculaire optimisée au niveau B3LYP/6-311+G(d,p) est schématisée Figure II-2, et les différents paramètres géométriques sont détaillés en annexe 2. En définissant un plan à l'aide des carbones du cycle benzénique, nous remarquons que tous les atomes de la molécule d'acide caféique sont contenus dans ce plan. On note une liaison hydrogène entre l'hydrogène 18 et l'oxygène 19 de longueur 2.146 Å permettant une stabilisation supplémentaire de la molécule.

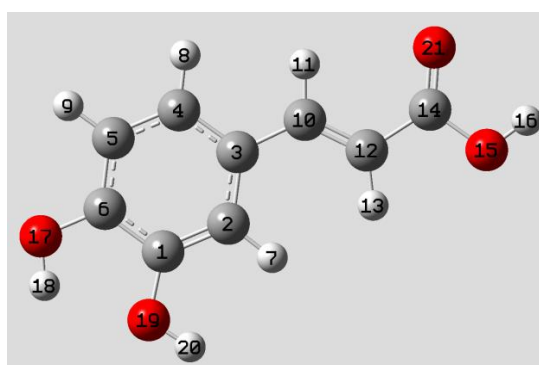


Figure II-2 : Structure optimisée de l'acide caféique

Les spectres d'absorption UV-visible ont été calculés au niveau TD-DFT en utilisant la géométrie optimisée avec la fonctionnelle B3LYP. L'impact de la fonctionnelle d'échange-corrélation sur la position et l'intensité des pics d'absorption est illustré sur la Figure II-3, en comparaison avec le spectre expérimental. Ce dernier présente deux maxima à 325 et 290 nm. Nous appellerons bande 1 le pic à 325 nm et bande 2 celui à 290 nm. Dans le Tableau II-2 sont reportés les longueurs d'onde et forces d'oscillateur correspondant à ces deux bandes calculées au niveau TD-DFT. La comparaison

expérience/théorie conforte clairement le choix de la fonctionnelle B3LYP comme étant la fonctionnelle la mieux adaptée pour notre étude, ce qui est en accord les travaux de J.P. Cornard et C. Lapouge [64] et de S.M. Fiuza et al. [70].

Cette fonctionnelle sera donc utilisée pour le calcul des spectres de l'ensemble des acides hydroxycinnamiques et hydroxybenzoïques.

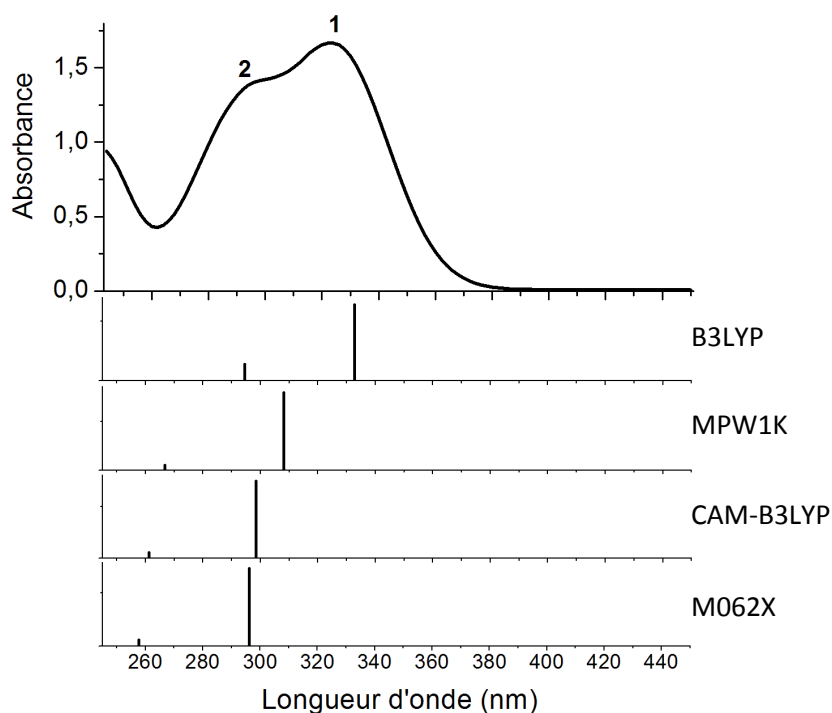


Figure II-3 : Spectre d'absorption UV-visible expérimental de l'acide caféique et maxima des absorptions calculées à l'aide des fonctionnelles B3LYP, MPW1K, CAM-B3LYP et M062X (du haut vers le bas).

Nous notons en particulier que la longueur d'onde de la bande 2 calculée au niveau B3LYP (voir Figure II-3) est en excellent accord avec la valeur expérimentale à 295 nm. Pour la bande 1, nous observons un léger décalage vers les grandes longueurs d'onde de 10 nm. Les rapports d'intensité des bandes sont quant à eux moins bien reproduits. En effet, nous constatons que les rapports des intensités bande 2/bande 1 sont de 0,22 pour le calcul et de 0,79 pour l'expérience.

Tableau II-2 : Position des deux bandes de transition électronique expérimentale et les valeurs obtenues par calculs quantiques

	Bande 1		Bande 2	
	Position (en nm)	force d'oscillateur	Position (en nm)	force d'oscillateur
expérimentalement	323		295	
B3LYP	333	0,64	294	0,14
MPW1K	308	0,80	267	0,05
Cam-B3LYP	298	0,75	261	0,06
M062X	296	0,73	258	0,06

Ces calculs vont nous permettre maintenant d'identifier plus précisément la nature des transitions électroniques mises en jeu lors de l'absorption des photons incidents. La bande 1 de plus faible énergie (3,73 eV, soit de 333 nm), implique très majoritairement (96 %) une transition électronique de l'orbitale moléculaire HOMO (orbitale moléculaire occupée de plus haute énergie) vers l'orbitale moléculaire LUMO (orbitale moléculaire inoccupée de plus basse énergie). Ces orbitales moléculaires sont de symétrie π et sont représentées dans la Figure II-4 en vue de dessus. Pour faciliter cette interprétation, nous avons également calculé ces orbitales pour les fragments catéchol (cycle phénolique) et acide acrylique représentées dans la Figure II-4. Nous remarquons ainsi que l'orbitale LUMO de l'acide caféique correspond au couplage liant de la LUMO du fragment catéchol avec la LUMO du fragment acrylate, et que l'orbitale HOMO coïncide avec le couplage antiliant HOMO/HOMO des deux fragments de la molécule.

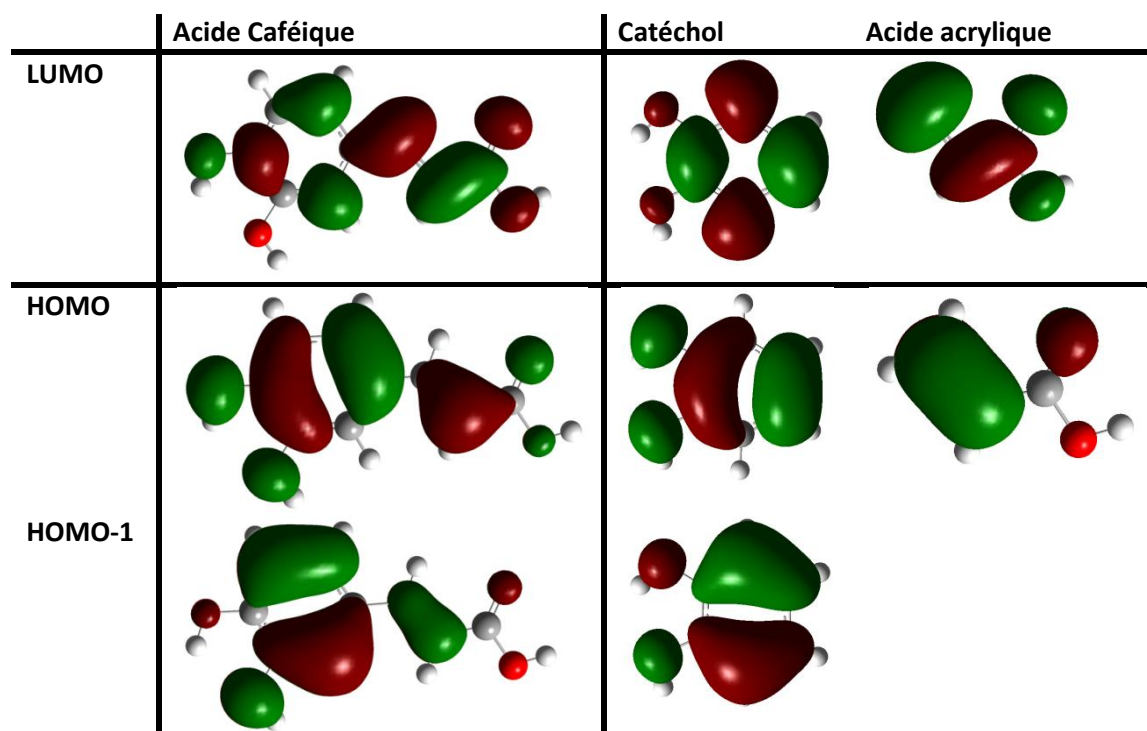


Figure II-4 : Représentation des orbitales moléculaires mises en jeu dans les deux premières bandes d'absorption UV-visible de l'acide caféique, ainsi que celles des fragments de cette molécule

La bande 2 de plus faible énergie (4,21 eV, soit 294 nm) correspond également à une transition de type $\pi \rightarrow \pi^*$ entre la HOMO-1 et la LUMO. Nous retrouvons la représentation de l'orbitale moléculaire HOMO-1 dans la Figure II-4. En la comparant à celles des fragments, nous nous apercevons que l'orbitale HOMO-1 met en jeu le couplage antiliant de la HOMO-1 du catéchol avec la HOMO du fragment acrylate.

Comme nous le constatons dans ces représentations des orbitales moléculaires de l'acide caféique, les transitions électroniques mettent en jeu une redistribution des électrons au sein de la molécule. La bande 1 par exemple (transition HOMO - LUMO) met en jeu un transfert de charge du cycle catéchol vers le groupement de l'acide acrylique. Cette molécule a un dipôle électrique de 6,460 D.

II.2.1.2 Acide férulique

L'acide férulique comporte un groupement hydroxyle en position para de l'acide acrylique et un groupement méthoxyle en position méta. Il est présent sous forme libre dans le vin blanc avec une concentration de 0,8 mg/L en moyenne.

Dans la Figure II-1, l'acide férulique présente un spectre d'absorption avec deux maxima à 295 et 325 nm, comme pour l'acide caféique. Le rapport d'intensités bande 2/bande 1 est de 0,73 pour l'acide férulique, à comparer avec le rapport de 0,79 mesuré pour l'acide caféique. En suivant la procédure d'optimisation décrite auparavant, nous avons établi la structure optimisée de l'acide férulique optimisée au niveau B3LYP/6-311+G(d,p) est représentée Figure II-5.

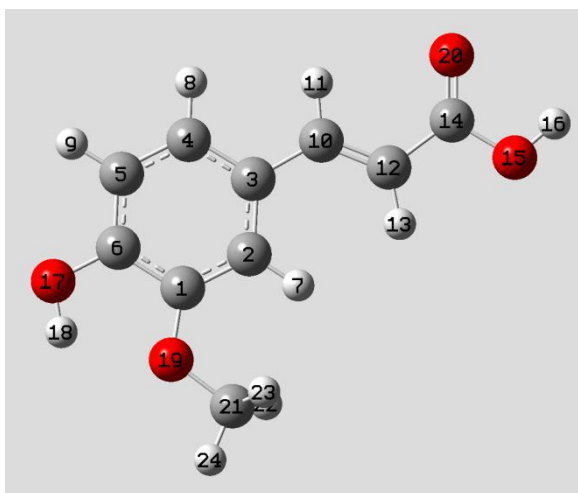


Figure II-5 : Structure optimisée de l'acide férulique

En observant sa configuration, nous nous apercevons que la géométrie de cette molécule est très proche de celle de l'acide caféique. A part les atomes d'hydrogène du groupement méthyle, tous les atomes sont dans le même plan avec également une liaison hydrogène intramoléculaire de 2,133 Å entre l'atome d'hydrogène 18 et l'atome d'oxygène 19. Les caractéristiques géométriques de cet acide sont détaillées en annexe 2. Son dipôle électrique est de 6,549 D ce qui est supérieur à celui de l'acide caféique.

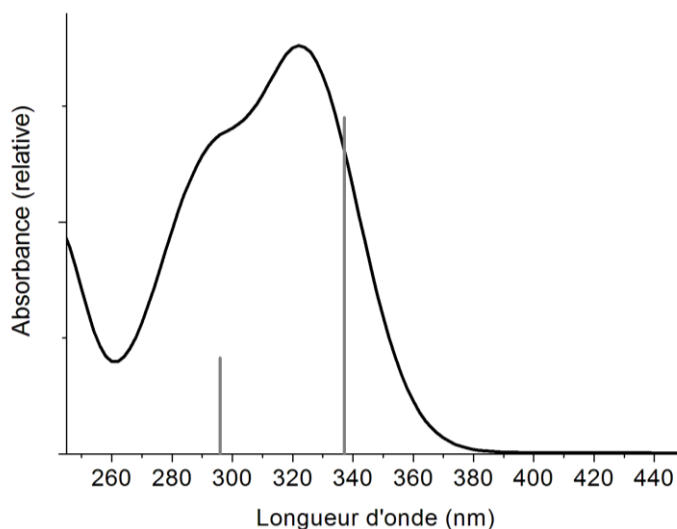


Figure II-6: Spectre d'absorption UV-visible de l'acide férulique et les bandes calculées

Dans la Figure II-6, les transitions électroniques calculées sont proches des maxima observés sur le spectre expérimental en noir. La bande 1 observée à 325 nm est calculée à une énergie de 3,68 eV, soit une longueur d'onde de 337 nm. Comme pour l'acide caféique, nous retrouvons le décalage de 10 nm de la bande 1 vers les grandes longueurs d'onde par rapport au résultat expérimental. Cette bande implique à 96 % une transition électronique de l'orbitale HOMO vers l'orbitale LUMO (Figure II-7).

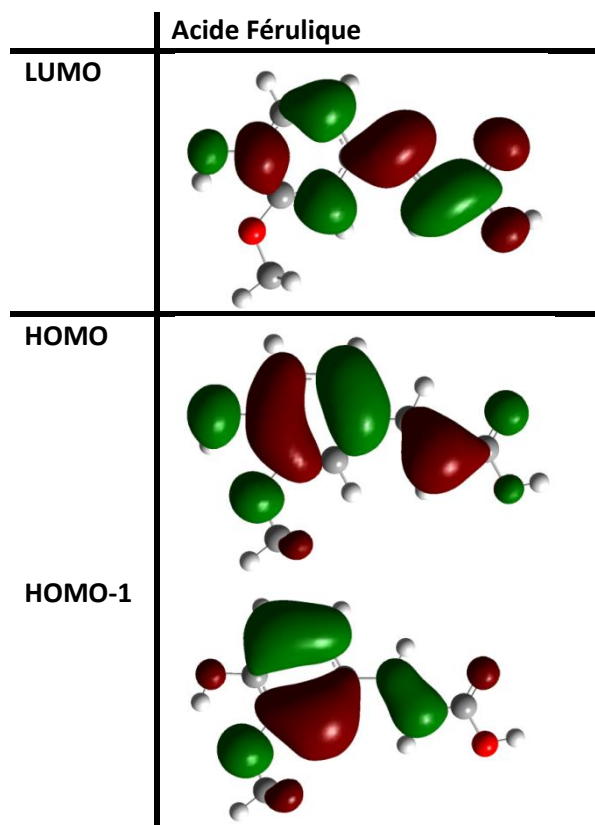


Figure II-7 : Représentation des orbitales moléculaires HOMO-1, HOMO et LUMO de la molécule d'acide férulique

Les différentes orbitales moléculaires mises en jeu dans les transitions électroniques sont représentées Figure II-7. Nous remarquons que, comme pour l'acide caféique, l'orbitale LUMO de l'acide férulique correspond au couplage liant de la LUMO du catéchol avec la LUMO du fragment acrylate. L'orbitale moléculaire HOMO est, là encore, due au couplage antiliant HOMO/HOMO des deux fragments de la molécule et se différencie de celle de l'acide caféique par la présence d'une densité électronique au niveau du groupement méthyle du groupe méthoxy de l'acide férulique.

La bande 2 correspond à 78 % à la transition HOMO-1 - LUMO. Son énergie de transition est de 4,19 eV, soit une longueur d'onde 296 nm, ce qui est en excellent accord avec l'expérience. La représentation de l'orbitale HOMO-1 dans la Figure II-7 coïncide avec le couplage antiliant de la HOMO-1 du catéchol avec la HOMO du fragment acrylate. Nous observons une faible densité électronique sur le groupement méthoxyle qui ne joue pas de rôle prépondérant. Les résultats des calculs montrent un accord raisonnable avec les résultats expérimentaux obtenus en spectroscopie absorption UV-visible. La forte corrélation entre les résultats obtenus pour les acides caféique et férulique explique bien la similitude de leurs spectres d'absorption UV-visible.

II.2.1.3 Acide sinapique

L'acide sinapique comprend un groupement hydroxyle en position para et deux groupements méthoxyle en positions méta de la fonction acide. Il se trouve sous forme libre dans le vin blanc avec une concentration de 0,6 mg/L en moyenne. Son spectre d'absorption présente une bande unique dont le maximum d'intensité est à 325 nm (Figure II-1).

La structure la plus stable de l'acide sinapique déterminée au niveau B3LYP/6-311+G(d,p) est représentée dans la Figure II-8 dont le dipôle électrique est de 7,718 D.

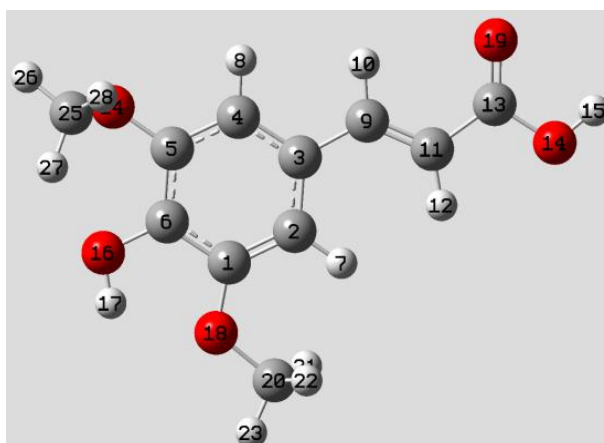


Figure II-8 : Structure optimisée de l'acide sinapique

La molécule optimisée possède tous ses atomes de carbone et d'oxygène dans le même plan, sauf le carbone 25 du groupement méthoxyle. En effet, la liaison $C_{25}-O_{24}$ est perpendiculaire au plan formé par les autres atomes. Les atomes d'hydrogène des deux groupements méthoxyles sont eux également hors de ce plan. L'acide sinapique présente, comme les deux autres acides, une liaison hydrogène entre l'hydrogène 17 et l'oxygène 18 d'une longueur de 2,089 Å. Les caractéristiques géométriques de l'acide sinapique sont là encore détaillées en annexe 2.

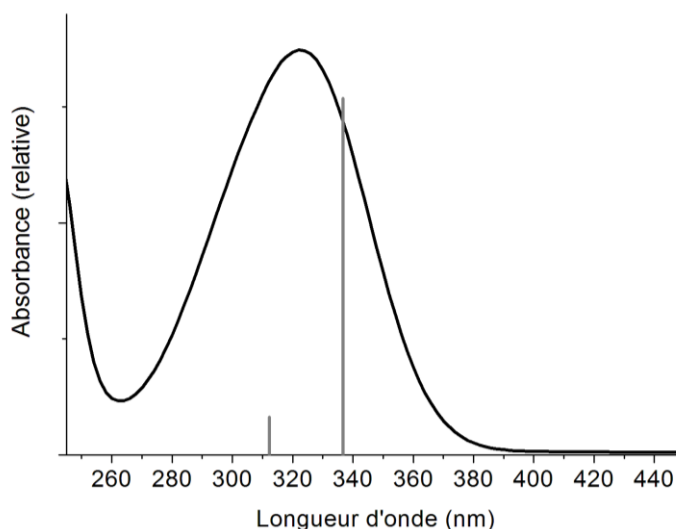


Figure II-9 : Spectre d'absorption UV-visible de l'acide sinapique et les bandes calculées

Les calculs indiquent que la large bande d'absorption observée expérimentalement résulte de la superposition de deux bandes, proches en énergie (Figure II-9). La première a une énergie de

3.68 eV (soit à une longueur d'onde de 337 nm) et correspond à 96% à une transition HOMO → LUMO. La seconde, située à 3.97 eV (312 nm), est associée à 86 % à une transition de la HOMO-1 vers la LUMO.

La représentation graphique des trois orbitales moléculaires mises en jeu est reportée sur la Figure II-10.

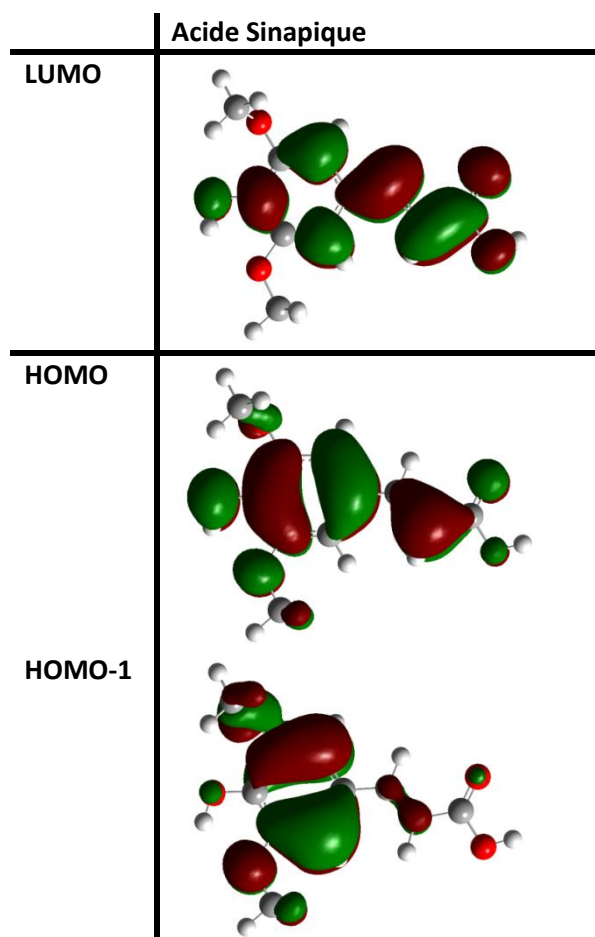


Figure II-10 : Représentation des orbitales moléculaires HOMO-1, HOMO et LUMO de la molécule d'acide sinapique

La forme de l'orbitale moléculaire LUMO est qualitativement identique à celle des autres acides. Nous observons cependant des différences pour les orbitales HOMO et HOMO-1 liées à la présence du groupement méthoxyle perpendiculaire au plan de la molécule.

II.2.1.4 Acide p-coumarique

L'acide p-coumarique présente un groupement hydroxyle unique en position para du cycle benzoïque. Il est présent sous forme libre avec 1,5 mg/L en moyenne dans le vin blanc. Les calculs de DFT ont permis de déterminer la structure de plus faible énergie de l'acide p-coumarique représentée dans la Figure II-11.

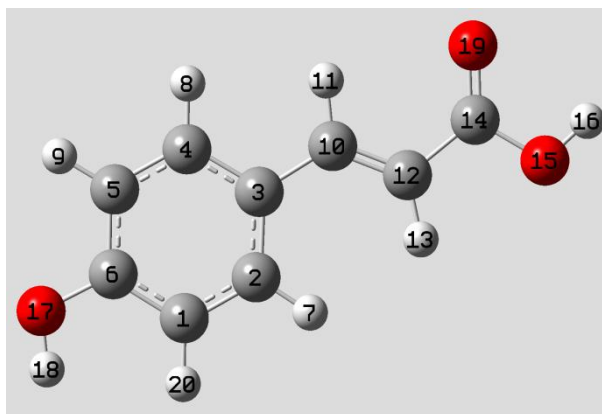


Figure II-11: Structure optimisée de l'acide para-coumarique

Tous les atomes de cette molécule sont dans le même plan, comme cela est le cas pour l'acide caféique. Bien entendu, il n'y a pas de liaison hydrogène intramoléculaire. Dans la Figure II-11, nous remarquons que l'acide p-coumarique a un spectre d'absorption UV-visible différent de celui des autres acides hydroxycinnamiques. En effet, il présente une bande d'absorption dont le maximum est situé à 309 nm, ce qui est plus bas que la bande 1 des autres acides. Nous observons également un épaulement vers 290 nm que nous retrouvons dans la littérature [71]. Là encore, nous avons utilisé les calculs pour comprendre l'origine des bandes 1 et 2 de la Figure II-12 et le dipôle électrique est le plus faible des molécules calculées avec 6,003 D.

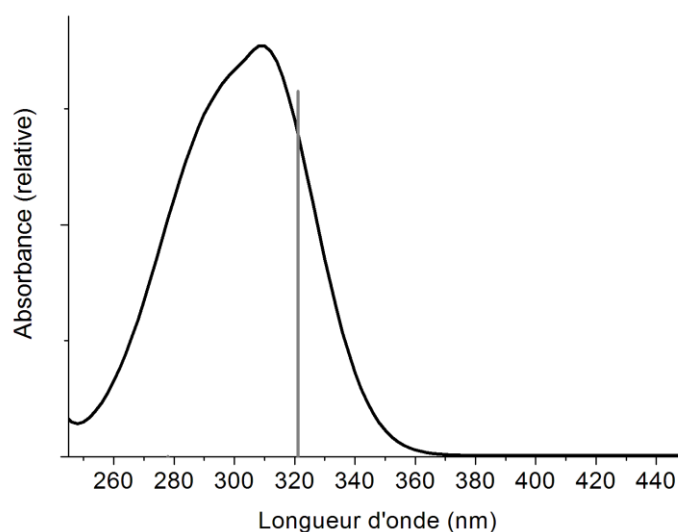


Figure II-12 : Spectre d'absorption UV-visible de l'acide p-coumarique et les bandes calculées

La bande 1 est calculée avec une énergie de 3,86 eV, soit à une longueur d'onde de 321 nm. Elle implique à 97 % une transition HOMO \rightarrow LUMO (Figure II-13).

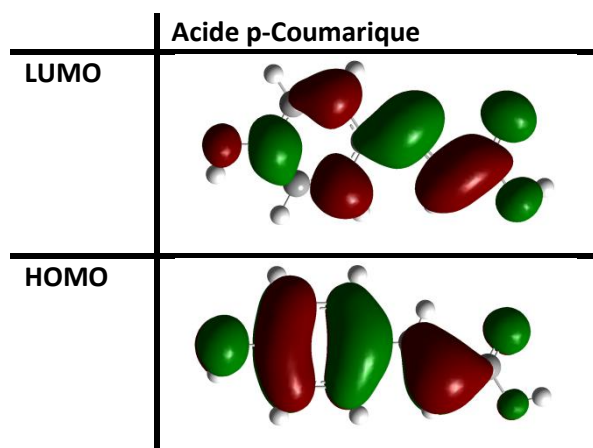


Figure II-13 : Représentation des orbitales moléculaires: HOMO et LUMO de la molécule d'acide p-coumarique

La fonctionnelle B3Lyp utilisée pour les calculs semble rendre moins bien compte des résultats expérimentaux par rapport aux autres acides. En effet, la bande 2 observée sur le spectre expérimental n'est pas calculée à cette position. Une explication pourrait être que l'excitation à l'origine de la bande 2 observée n'est pas de même nature que pour les autres acides. La fonctionnelle B3Lyp ne prend en compte que les excitations mono-électroniques et la bande 2 pourrait être due à une excitation simultanée de deux électrons. Nous ne chercherons pas à comprendre l'origine de cette épaulement dans ce manuscrit.

II.2.1.5 Conclusion

Nous avons pu constater dans l'ensemble un bon accord entre les mesures d'absorption UV-visible et les calculs TD-DFT effectués au niveau B3LYP/6-311+G(d,p). Nous avons synthétisé les principaux résultats obtenus dans le Tableau II-3.

Les spectres expérimentaux des acides caféique, férulique et sinapique présentent une bande 1 d'absorption vers 325 nm (335 nm pour les calculs) impliquant les électrons π des orbitales moléculaires HOMO et LUMO. La position et l'intensité du maximum d'absorption de la bande 2 permettent de différencier ces trois acides. Pour les acides caféique et férulique, la bande 2 se situe vers 295 nm alors qu'elle est calculée vers 312 nm pour l'acide sinapique. Le faible écart entre les positions des bandes 1 et 2 et la faible intensité de la bande 2, peuvent expliquer l'observation expérimentale de la bande 1 seulement pour l'acide sinapique.

Pour tous les composés, la bande 1 est majoritairement due à une transition de type $\pi - \pi^*$ entre de la HOMO vers la LUMO, alors que la bande 2 implique principalement une transition HOMO-1 \rightarrow LUMO. Dans chaque cas, la LUMO correspond au couplage liant de la LUMO du catéchol avec la LUMO du fragment de l'acide acrylique, la HOMO au couplage antiliant HOMO/HOMO des deux fragments de la molécule et la HOMO-1 au couplage antiliant HOMO-1 du catéchol avec la HOMO du fragment de l'acide acrylique. Nous avons pu constater que les densités électroniques des orbitales LUMO sont similaires pour tous les acides, ce qui n'est pas le cas des HOMO. Nous constatons également que le dipôle électronique des ces molécules augmente suivant le nombre et le type des groupements fonctionnels sur le cycle.

Tableau II-3 : Résumé des valeurs d'absorption UV-visible des quatre acides hydroxycinnamiques

	Bande 1		Bande 2		Dipôle (D)
	expérimental	calcul	expérimental	calcul	
Acide p-coumarique	309	321	290	/	6.003
Acide caféique	325	333	290	294	6.460
Acide férulique	325	337	290	296	6.549
Acide sinapique	325	337	/	312	7.718

Le nombre de groupements fonctionnels π -donneurs sur le cycle joue également un rôle sur la position des bandes 1 et 2. Plus ce nombre est élevé, plus la conjugaison électronique dans l'état fondamental est importante, et plus les bandes sont déplacées vers le rouge. Le transfert de charge dans l'état fondamental est également plus important, comme en témoignent les valeurs croissantes du moment dipolaire. On remarque également que l'augmentation du nombre de substituants π -donneurs sur le phényle entraîne un rapprochement des bandes 1 et 2 sur le spectre. La bande 2 de l'acide p-coumarique observée sur le spectre vers 290 nm ne peut être interprétée sur la base des calculs TD-DFT.

II.2.2 Acides hydroxycinnamiques liés : acide caftarique

L'acide caftarique ou acide caffeoyltartarique est le produit de l'estérification de l'acide caféique par l'acide tartrique. Cette molécule est représentée dans la Figure II-14 avec en noir le fragment d'acide caféique et en gris le fragment d'acide tartrique. Il est présent dans le vin blanc avec une concentration d'environ 21,5 mg/L [62][63].

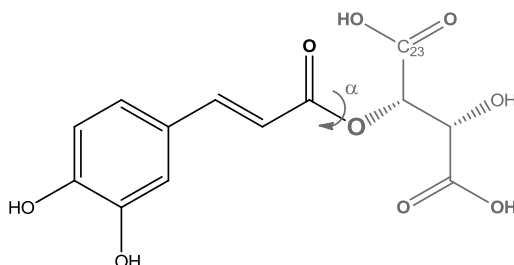


Figure II-14 : Représentation de la molécule d'acide caftarique

L'acide caftarique est une molécule plus complexe que les autres acides modélisés. En effet, la recherche de la conformation de moindre énergie est plus délicate car cette molécule est plus flexible. Nous avons vu que les acides libres étudiés ont des conformations planes alors que l'acide caftarique présente de nombreux degrés de liberté supplémentaires liés au fragment acide tartrique. Nous noterons α la rotation déterminant la position et l'orientation de l'acide tartrique par rapport au reste de la molécule. Le dipôle électrique induit de l'acide caftarique est de 7,664 D, valeur supérieure à celle calculée (6,460 D) pour l'acide caféique

Le spectre d'absorption UV-visible de l'acide caftarique obtenu expérimentalement et calculé au niveau B3LYP/6-311+G(d,p) est présenté sur la Figure II-15.

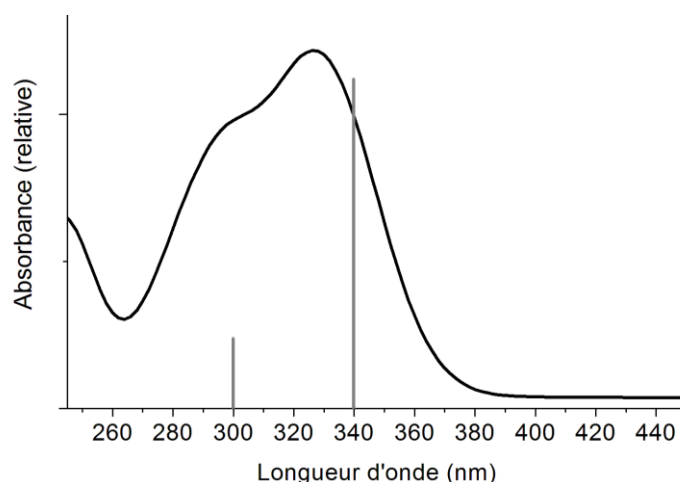


Figure II-15 : Spectre d'absorption UV-visible de l'acide caftarique et les bandes calculées

Le spectre d'absorption UV-visible expérimental de la Figure II-15 présente deux bandes d'absorption à 325 nm et 290 nm avec un rapport d'intensités bande 2/bande 1 de 0,79. Ainsi, le spectre obtenu expérimentalement pour l'acide caftarique est également très proche, par la position des bandes et leurs rapports d'intensités, de celui de l'acide caféique.

Les calculs quantiques réalisés sur cette molécule vont nous permettre d'identifier plus précisément l'origine de ces bandes. La bande 1 est due à 99 % à la transition des électrons de la HOMO vers la LUMO et se caractérise par une énergie de 3,65 eV, c'est à dire d'une longueur d'onde d'environ 340 nm. En analysant les orbitales moléculaires mises en jeu (Figure II-16), nous remarquons que les orbitales HOMO HOMO et LUMO de l'acide caftarique sont très faiblement délocalisées sur l'acide tartrique, et restent donc très similaires aux OM frontières de l'acide caféique. Cette similitude des OM permet d'expliquer les valeurs comparables des longueurs d'onde d'absorption associée à la bande 1 dans les deux composés. La très légère délocalisation de la LUMO sur l'acide tartrique entraîne néanmoins un léger déplacement vers le rouge de la bande 1 (340 nm vs 333 nm) et une augmentation du transfert de charge photo-induit (la variation du moment dipolaire passant de 6,46 D pour l'acide caféique à 7,66 D pour l'acide caftarique).

La bande 2 a pour origine une composition de transitions électroniques mettant en jeu les orbitales HOMO-1 \rightarrow LUMO à 71% et HOMO \rightarrow LUMO+1 à 24 %. L'énergie de la transition est de 4,14 eV, soit une longueur d'onde de 300 nm. En observant ces différentes orbitales moléculaires, nous remarquons que cette transition implique un transfert de charges du fragment caféique vers le fragment acide tartrique de la molécule, la LUMO+1 étant localisée sur le fragment tartrique de la molécule.

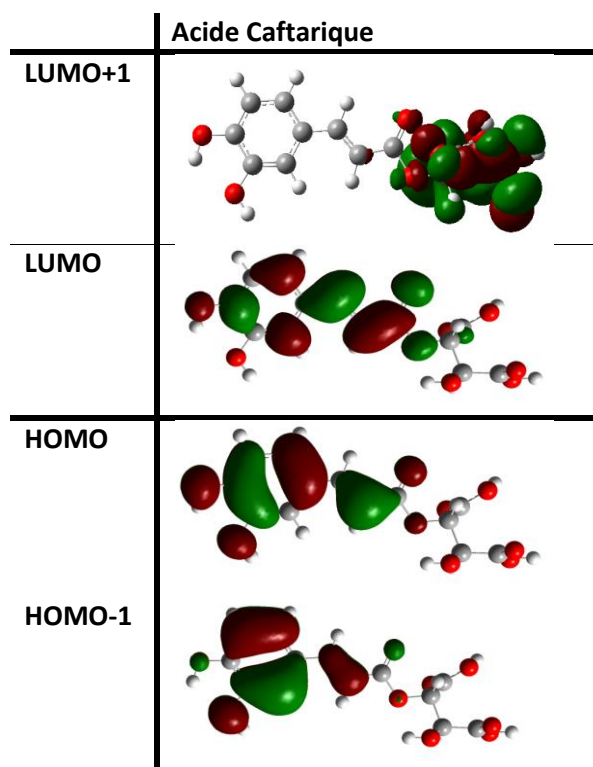


Figure II-16 : Représentation des orbitales moléculaires: HOMO-1, HOMO, LUMO et LUMO+1 de la molécule d'acide caftarique

Ainsi la présence du fragment caftarique modifie donc sensiblement la structure d'une des OM (LUMO+1) impliquées dans les transitions électroniques à l'origine de la bande 2. Malgré cela les spectres d'absorption UV-visible de l'acide caféique et de l'acide caftarique sont tellement proches qu'il est impossible de les distinguer. En effet, les orbitales HOMO et LUMO impliquées de la bande 1 sont similaires pour ces deux acides, alors que la transition majoritaire à l'origine de la bande 2 est la transition HOMO-1→LUMO (71% pour l'acide caftarique et 80% pour l'acide caféique).

II.2.3 Acide hydroxybenzoïque : acide gallique

L'acide gallique est l'acide hydroxybenzoïque majoritaire dans les vins. Il se distingue de la famille des acides hydroxycinnamiques par l'absence de chaîne carbonée entre le cycle benzoïque et le groupement carboxylique. Il comporte trois groupements hydroxyles en position méta et para. Comme nous l'observons dans Figure II-17, sa structure la plus stable comporte deux liaisons hydrogène intramoléculaires entre l'hydrogène 10 et l'oxygène 11 et entre l'hydrogène 12 et l'oxygène 13 de longueur respectivement de 2,196 Å et de 2,194 Å. La géométrie de l'acide gallique est détaillée en annexe 2.

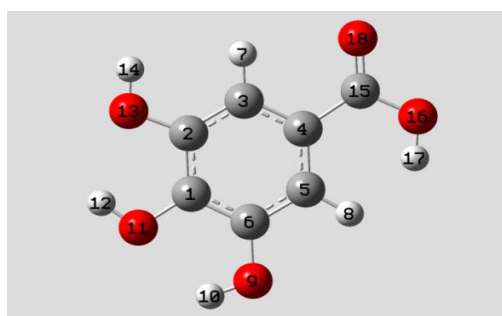


Figure II-17 : Structure la plus stable de l'acide gallique

Le spectre d'absorption de l'acide gallique (Figure II-18) présente une large bande légèrement déformée vers les grandes longueurs d'onde dont le maximum est situé à 275 nm. Or, les calculs prévoient la présence de deux transitions électroniques dans cette région : la bande 1 a une énergie de 4,33 eV soit à une longueur d'onde de 286 nm correspond à 65 % à une transition HOMO-1 \rightarrow HOMO et à 26 % à une transition HOMO \rightarrow LUMO. La bande 2, plus intense, a une énergie de 4,51 eV soit une longueur d'onde de 275 nm et correspond à 70 % à la transition HOMO \rightarrow LUMO et à 25 % à la transition HOMO-1 \rightarrow LUMO. Il semble que ce soit cette transition majoritairement HOMO \rightarrow LUMO qui soit responsable de la bande d'absorption UV-visible expérimentale vers 275 nm. Le spectre d'absorption UV-visible et les résultats du calcul quantique sont représentés dans la Figure II-18.

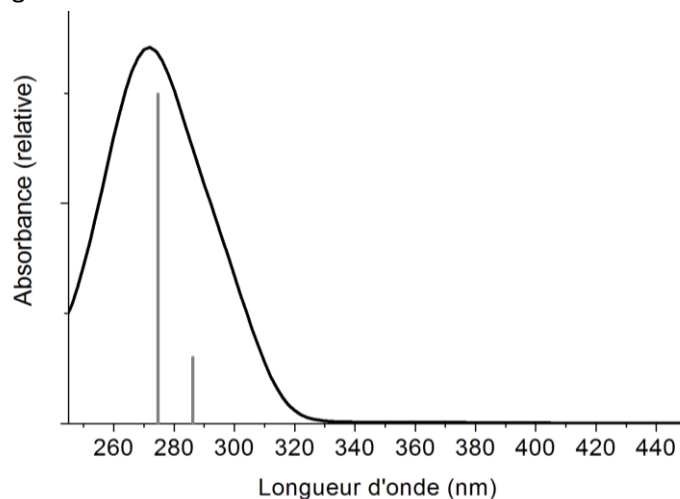


Figure II-18 : Spectre d'absorption UV-visible de l'acide gallique et les bandes calculées

Les orbitales moléculaires mises en jeu dans les transitions électroniques sont représentées sur la Figure II-19.

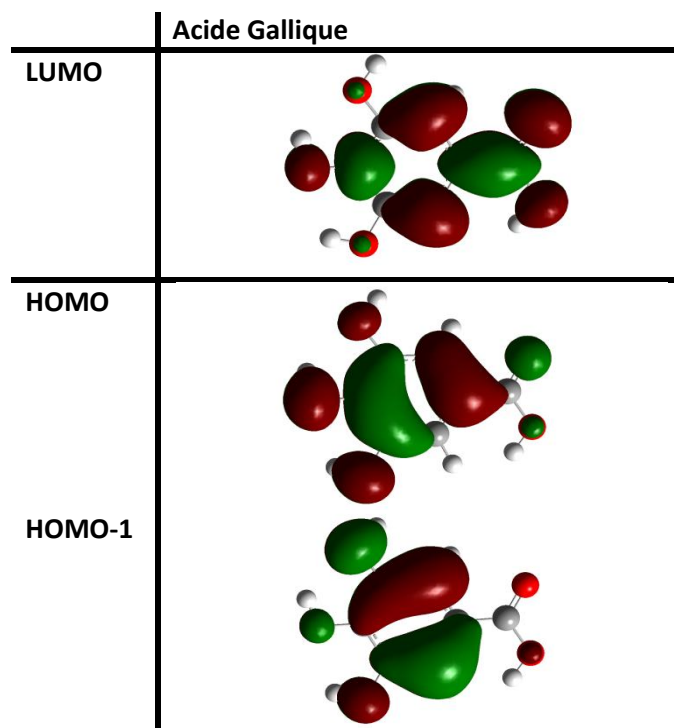


Figure II-19 : Représentation des orbitales moléculaires : HOMO-1, HOMO et LUMO de la molécule d'acide gallique

Comme pour les acides hydroxycinnamiques, nous observons un transfert de charge du fragment benzoïque vers le fragment de l'acide carboxylique. Les deux transitions sont énergétiquement proches et ne sont pas résolues expérimentalement puisqu'une seule bande est observée dans le spectre UV-visible de l'acide gallique.

Ainsi, l'acide gallique a un spectre d'absorption UV-visible très différent de celui qui caractérise la famille des acides hydroxycinnamiques. Il n'absorbe pratiquement plus le rayonnement pour des longueurs d'onde supérieures à 325 nm. En s'intéressant à l'énergie des orbitales HOMO et LUMO de chaque molécule, nous nous apercevons que le niveau HOMO de l'acide gallique est plus stable d'environ 0,25 eV par rapport à ceux des acides hydroxycinnamiques. L'énergie de l'orbitale LUMO de l'acide gallique est quant à elle très élevée par rapport aux autres acides, induisant ce décalage très important de la transition électronique vers les hautes énergies, soit vers des longueurs d'onde faibles.

II.2.4 Conclusion

Comme nous venons de le constater, les deux familles d'acides phénoliques présentes dans les vins ont des spectres d'absorption UV-visible distincts. Pour les acides caféique, sinapique et férulique nos résultats expérimentaux sont en assez bon accord avec ceux de la littérature [40]. Les bandes d'absorption observées dans les vins blancs sont donc bien dues en grande partie à ces deux familles d'acides phénoliques. La famille des acides hydroxycinnamiques se caractérise par un maximum d'absorption vers 325 nm avec une largeur à mi-hauteur d'environ 60 nm alors que celle des acides hydroxybenzoïques a un maximum vers 275 nm avec une largeur à mi-hauteur d'environ 40 nm. La transition électronique $\pi-\pi^*$ de la bande d'absorption la plus intense de ces acides phénoliques met en jeu essentiellement les orbitales moléculaires HOMO et LUMO. Les spectres d'absorption UV-visible présentent une deuxième bande de bien plus faible intensité avec une transition à caractère HOMO-1 \rightarrow LUMO principalement.

La synthèse des résultats obtenus pour chacun de ces acides est listée dans le Tableau II-4.

Tableau II-4 : Résumé des résultats d'absorption UV-visible et des calculs pour tous les acides étudiés

	Bande 1			Bande 2		
	expérimental	calcul	origine	expérimental	calcul	origine
Acide caféique	325	333	96% H->L	290	294	80% H-1->L
Acide férulique	325	337	96% H->L	290	296	78% H-1->L
Acide sinapique	325	337	96% H->L	/	312	86% H-1->L
Acide p-coumarique	309	321	97% H->L	290	/	
Acide caftarique	325	340	99% H->L	290	300	71% H-1->L 24% H->L+1
Acide gallique	/	286	26% H->L 65% H-1->L	275	275	70% H->L 25% H-1->L

II.3 La fluorescence

Dans le chapitre 1, nous avons décrit brièvement l'origine de l'émission de fluorescence qui est intrinsèquement liée à l'absorption UV-visible. En effet, l'émission de fluorescence pour une excitation donnée ne peut avoir lieu qu'à la condition que l'échantillon absorbe en partie le rayonnement à cette longueur d'onde.

Les mesures de fluorescence sont généralement réalisées à l'aide d'un spectrofluorimètre. Le principe de fonctionnement de cet appareil présente de nombreux points communs avec celui d'un spectromètre Raman. La source lumineuse est une lampe au Xénon. Un double monochromateur permet de sélectionner une longueur d'onde d'excitation. L'émission de fluorescence est analysée à 90° par rapport à la direction du rayonnement excitateur à l'aide d'un double monochromateur et d'un photomultiplicateur ou d'une caméra CCD (annexe 1). Pour des solutions fortement absorbantes, il est aussi possible d'orienter l'échantillon de manière à mesurer la fluorescence émise après réflexion du rayonnement à sa surface. L'appareil dont nous disposons au laboratoire est calibré, c'est-à-dire que le profil du spectre expérimental est corrigé de la fonction d'appareil. Un spectromètre Raman dispose également d'une source lumineuse monochromatique : laser ou diode. Le rayonnement émis est analysé par un réseau de diffraction et détecté par une caméra CCD. Les différences majeures entre un spectrofluorimètre et un spectromètre Raman sont liées d'une part à la nature de l'excitation qui est cohérente (laser) en Raman et d'autre part dans la géométrie du montage Raman puisque le rayonnement émis par l'échantillon est analysé à 180 ° par rapport à la direction de propagation de l'excitation. Ainsi, il est également possible à partir d'un spectromètre Raman d'obtenir des spectres de fluorescence LIF (Laser-Induced Fluorescence). Ces deux types d'appareillage sont en mesure d'enregistrer des spectres d'émission de fluorescence avec cependant des sensibilités et des réponses différentes.

En effet, le spectre enregistré par un appareil optique sera déformé par rapport au spectre réel. Par exemple sur la Figure II-20-a, nous comparons les émissions de fluorescence (normalisées en intensité) de trois solutions modèles d'acides hydroxycinnamiques enregistrées sans correction de la réponse du système optique (monochromateur, réseau, détection etc.). Les signaux sont déformés pouvant même présenter plusieurs maxima, mais nous noterons que quel que soit le spectromètre utilisé, les maxima d'émission de fluorescence de ces acides se situent toujours entre 420 et 500 nm. Nous avons estimé une fonction de correction des spectres LIF en nous basant sur les spectres corrigés du spectrofluorimètre. Une fois corrigés (Figure II-20-b), les spectres obtenus ont maintenant des profils très voisins et chaque acide présente un seul maximum de fluorescence. Nous avons donc appliqué cette même fonction de correction aux spectres LIF des autres acides hydroxycinnamiques tel que l'acide p-coumarique (Figure II-21) et reporté dans le Tableau II-5 les valeurs des maxima de fluorescence pour une excitation à 325 nm.

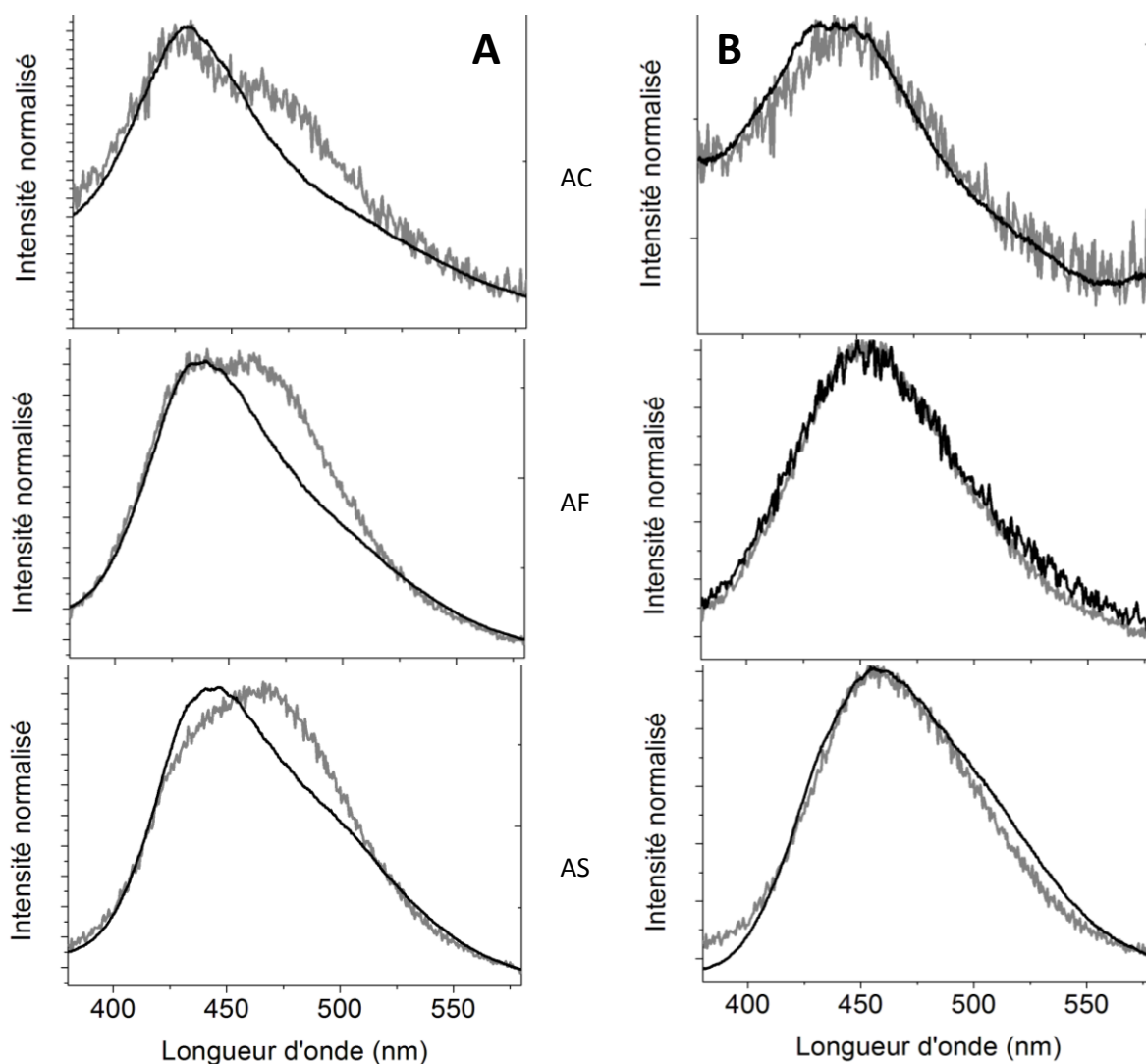


Figure II-20 : Comparaison des spectres de fluorescence (excitation 325 nm) des acides caféique (AC), fumarique (AF) et sinapique (AS) enregistrés sans (A) et avec (B) correction de la réponse du système optique. Les courbes en rouge sont les spectres enregistrés sur le spectrofluorimètre et ceux en bleu ont été obtenus avec le montage Raman.

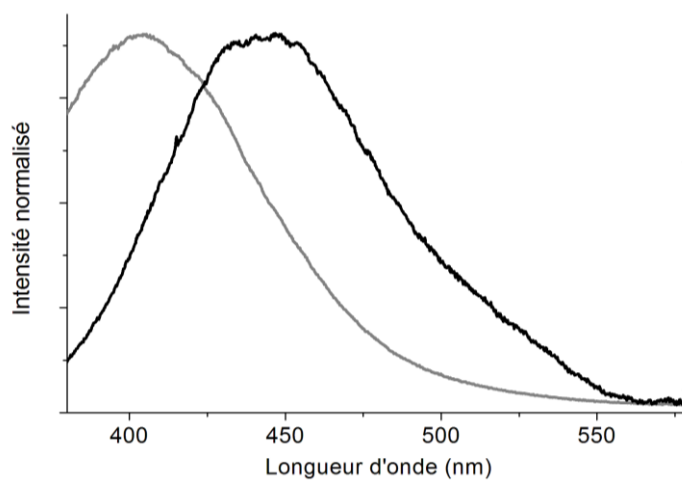


Figure II-21 : Spectres LIF (excitation 325 nm) corrigés de la fonction d'appareil des acides p-coumarique (gris) et caftarique (noir).

Tableau II-5 : Positions des maxima de fluorescence des acides hydroxycinnamiques.

Acides	λ_{\max} d'absorption UV-visible (nm)	λ_{\max} (nm) LIF brut	λ_{\max} (nm) LIF corrigé	λ_{\max} (nm) Spectro-fluorimètre corrigé
Caféique	325	430	443	446
Férulique	325	436	452	454
Sinapique	325	442	455	457
p-Coumarique	309	416	406	-
Caftarique	325	430	444	-

L'examen du Tableau II-5 révèle que les acides hydroxycinnamiques présentent des maxima d'absorption vers 325 nm (bande 1) et d'émission de fluorescence LIF vers 450 nm pour les spectres corrigés et vers 430 nm pour les spectres bruts. C'est en particulier le cas des acides caféique et caftarique que nous ne pouvons différencier ni par leurs profils ni par les positions des maxima d'absorption et d'émission de fluorescence. L'acide p-coumarique est une exception puisque ses maxima d'absorption et de fluorescence se situent à des nombres d'onde plus petits, respectivement 309 et 416 nm (pour le spectre brut). L'acide gallique a un maximum d'absorption UV-visible vers 275 nm et n'absorbe pratiquement plus le rayonnement au-delà de 325 nm. Nous n'avons pas observé de fluorescence avec une excitation de 325 nm pour cet acide. Par ailleurs, nous avons vu dans le chapitre précédent que les vins blancs présentaient des maxima d'absorption et de fluorescence respectivement vers 325 et 430 nm (pour les spectres bruts). Les spectres d'absorption UV-visible et LIF mesurés permettent donc d'identifier la famille des acides hydroxycinnamiques dans un vin blanc, qu'ils soient sous formes libre ou estérifiée, sans pour autant permettre de discriminer plus précisément les molécules qui interagissent avec le rayonnement. Nous avons donc montré qu'un spectromètre Raman peut être exploité pour mesurer rapidement (en quelques secondes) des spectres de fluorescence d'une solution, au moins qualitativement, à l'aide d'un montage en réflexion. Ainsi, nous pouvons envisager de mesurer la fluorescence de solutions plus absorbantes que les vins blancs. Une limitation de la technique LIF est que nous ne disposons que d'un nombre limité de sources d'excitation. Notre approche n'est donc pour l'instant que préliminaire et qualitative. Par exemple, une perspective intéressante dans ce contexte analytique serait de déterminer la réponse du spectromètre Raman sur un bien plus large domaine spectral pour des mesures plus quantitatives.

II.4 La diffusion Raman

II.4.1 Acides hydroxycinnamiques

Les acides hydroxycinnamiques ne présentent pas d'absorption au-dessus de 400 nm. Ainsi, les spectres Raman pour lesquels la longueur d'onde d'excitation est supérieure à cette valeur ne présenteront pas de fluorescence pour cette famille d'acides. La solution mère ne présentant pas de fluorescence pour des longueurs d'onde supérieures à 245 nm, les raies Raman particulièrement visibles de l'éthanol serviront de référence pour évaluer les modifications d'intensité sur les spectres des acides hydroxycinnamiques. Nous étudierons les spectres obtenus dans des conditions de diffusion Raman « normale » (RN) avec une excitation à 532 nm et de diffusion Raman de résonnance (RR) à 325 nm. Pour cette dernière longueur d'onde d'excitation, nous réaliserons un traitement de la ligne base pour supprimer le fond d'émission de fluorescence qui se superpose au spectre Raman.

II.4.1.1 Acide caféique

La Figure II-22 présente les spectres Raman de l'acide caféique pour des excitations de 532 nm (A) et 325 nm (B).

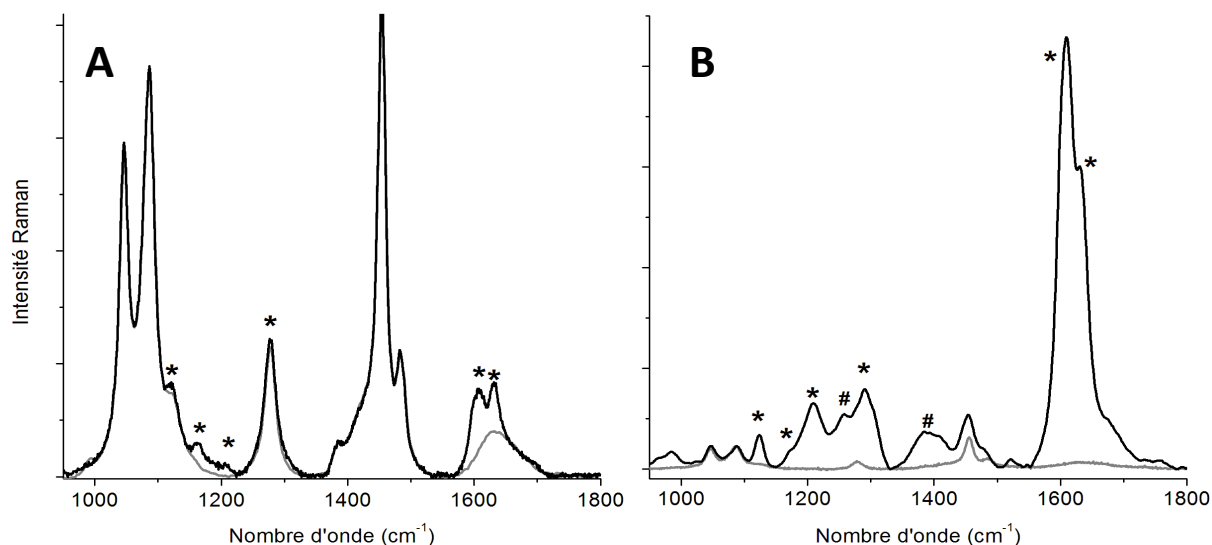


Figure II-22 : Spectres Raman à 532 nm (A) et à 325 nm (B) de la solution modèle d'acide caféique dont la fluorescence a été soustraite. Les courbes en gris représentent les spectres de la solution mère.

Dans la Figure II-22, nous avons reporté les spectres Raman de la solution mère (en gris) pour les excitations à 532 et 325 nm, les pics de l'éthanol étant visibles à 1047, 1087, 1280, 1455 et 1484 cm^{-1} (cf. attributions dans le Tableau I-1). Dans la Figure II-22-A, nous observons des pics supplémentaires sur les spectres RN de la solution modèle d'acide caféique par rapport à ceux de la solution mère. Ces pics supplémentaires sont symbolisés par * et se situent vers 1125, 1167, 1208, 1605 et 1632 cm^{-1} . Nous remarquons également une légère modification du profil du pic de l'éthanol à 1280 cm^{-1} .

Dans la Figure II-22-B, pour une excitation à 325 nm où l'acide caféique présente une absorption maximale du rayonnement, le spectre RR est profondément différent du spectre RN obtenu à 532 nm. En utilisant les intensités des raies de l'éthanol vers 1047 et 1087 cm^{-1} comme référence, il est évident que, les pics Raman de l'acide caféique sont considérablement plus intenses sur le spectre RR que sur le spectre RN. D'autres pics RR identifiés sur la Figure II-22-B par le symbole #, non détectés sur le spectre RN, sont observables vers 1257, 1293 et 1395 cm^{-1} . Le signal RR est exalté d'environ un facteur 10 pour les pics vers 1200 cm^{-1} et d'un facteur 30 pour le doublet vers 1600 cm^{-1} . Ces valeurs ne sont qu'indicatives, car les deux spectres sont enregistrés dans des conditions différentes, en particulier sans correction de la fonction d'appareil.

Tableau II-6 : Attribution des raies Raman « normal » (RN) et Raman de résonance (RR) de la solution modèle d'acide caféique observées entre 900 et 1800 cm^{-1} . Les valeurs de la distribution d'énergie potentielle supérieures à 10 % sont indiquées entre parenthèses.

$\bar{\nu}$ calculé (cm^{-1})	$\bar{\nu}$ RN (cm^{-1})	$\bar{\nu}$ RR (cm^{-1})	$\bar{\nu}$ RN (cm^{-1}) [14]	$\bar{\nu}$ RN (cm^{-1}) [72]	Attribution
1127	-	985			$\delta_{\text{cycle}}\text{H-C-C}$ (23%) + $\nu_{\text{cycle}}\text{C-C}$ (11%) + $\nu_{\text{hydroxyl}}\text{C-O}$ (10%)
1144	1125	1124			$\nu_{\text{carboxy}}\text{C-OH}$ (38%) + $\delta_{\text{carboxy}}\text{C-O-H}$ (23%) +
1185	1167	1176		1166	$\delta_{\text{cycle}}\text{H-C-C}$ (22%) + $\delta_{\text{hydroxyl}}\text{C-O-H}$ (21%) + $\nu_{\text{cycle}}\text{C-C}$ (14%) + $\nu_{\text{chaîne}}\text{C-C}$ (13%)
1210	1208	1209		1196	$\delta_{\text{hydroxyl}}\text{C-O-H}$ (29%) + $\nu_{\text{cycle}}\text{C-C}$ (28%) + $\delta_{\text{cycle}}\text{H-C-C}$ (24%)
1284	-	1257	1263		$\delta_{\text{cycle}}\text{H-C-C}$ (21%) + $\nu_{\text{hydroxyl}}\text{C-O}$ (19%) + $\delta_{\text{carboxy}}\text{C-O-H}$ (18%)
1305	-	1293	1297	1290	$\nu_{\text{hydroxyl}}\text{C-O}$ (29%) + $\nu_{\text{cycle}}\text{C-C}$ (16%)
1413	-	1395			$\nu_{\text{cycle}}\text{C-C}$ (31%) + $\delta_{\text{hydroxyl}}\text{H-O-C}$ (26%)
1638	1605	1608	1604	1606	$\nu_{\text{cycle}}\text{C-C}$ (43%) + $\delta_{\text{cycle}}\text{C-C-C}$ (19%) + $\nu_{\text{vinyl}}\text{C=C}$ (11%)
1670	1632	1634	1630	1635	$\nu_{\text{vinyl}}\text{C=C}$ (42%) + $\nu_{\text{cycle}}\text{C-C}$ (18%)
1744	1680	1676	1691	1687	$\nu_{\text{carboxy}}\text{C=O}$ (74%)

Symboles : ν = élongation, δ = déformation. Les indices précisent les groupements fonctionnels mettant en jeu les coordonnées internes indiquées.

Nous pouvons observer que les raies Raman exaltées impliquent principalement des vibrations du cycle et de la liaison C=C du groupement vinylique. En particulier les raies RR intenses observées à 1608 et 1634 cm^{-1} sont dues respectivement aux vibrations en phase (symétriques) et en opposition de phase (antisymétriques) du cycle et du groupement vinylique. Ces modes de vibrations sont schématiquement représentés sur la Figure II-23. En termes d'énergie potentielle, la contribution des coordonnées internes d'élongation C-C du cycle est prépondérante (43 %) pour le mode à 1608 cm^{-1} et la coordonnée interne d'élongation C=C du groupement vinylique est prépondérante (42 %) pour la raie à 1634 cm^{-1} . Ces attributions sont en bon accord avec celles proposées dans la littérature [14][72]. L'analyse des orbitales moléculaires (représentées Figure II-4) HOMO et LUMO liées à l'excitation vers 325 nm montre que ce sont essentiellement les électrons π du cycle et du groupement vinylique qui sont impliqués dans la transition électronique. Il en résulte que la variation de la polarisabilité moléculaire en fonction de la coordonnée normale de vibration sera très amplifiée pour les modes impliquant ces groupements fonctionnels.

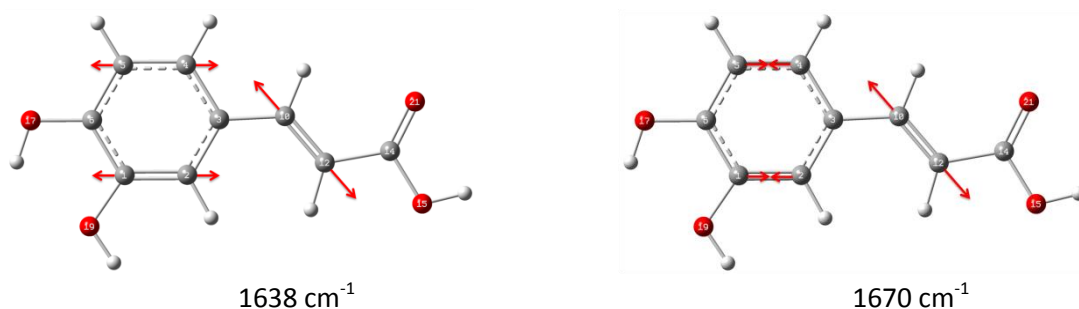


Figure II-23 : Représentation schématique des coordonnées internes impliquées dans les modes de vibration calculés à 1638 et 1670 cm^{-1} . Les flèches symbolisent la direction des déplacements atomiques.

II.4.1.2 Acide férulique

Les spectres Raman de l'acide férulique pour des excitations de 532 nm (A) et 325 nm (B) sont reportés dans la Figure II-24.

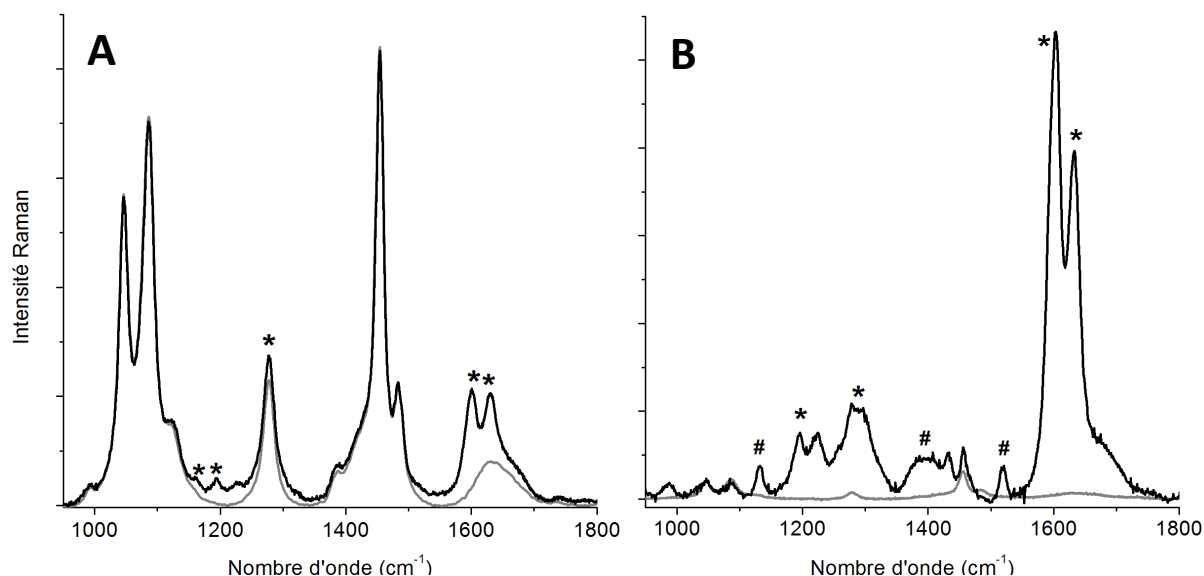


Figure II-24 : Spectres RN à 532 nm (A) et RR à 325 nm (B) de la solution modèle d'acide férulique. Le fond de fluorescence a été soustrait du spectre RR. Les courbes en gris représentent les spectres de la solution mère.

Le spectre RN de la solution modèle de l'acide férulique ne présente que peu de différences comparé à celui de la solution d'acide caféique. Cependant, les écarts entre les maxima des raies vers 1600 cm^{-1} sont de 26 cm^{-1} pour la solution d'acide caféique (32 cm^{-1} selon le calcul) et de 28 cm^{-1} pour l'acide férulique (33 cm^{-1} calculés). La signification des symboles reportés sur la Figure II-24 est la même qu'auparavant (cf. § II.4.1.1). En utilisant les intensités des raies de l'éthanol vers 1047 et 1087 cm^{-1} comme référence, le signal est exalté d'un facteur 10 pour les pics vers 1200 cm^{-1} et d'un facteur 30 pour le doublet vers 1600 cm^{-1} . Ces valeurs sont similaires à celles obtenues pour la solution modèle d'acide caféique. Nous avons résumé l'attribution des raies RN et RR observées dans le Tableau II-7.

Tableau II-7 : Attribution des raies Raman « normal » (RN) et Raman de résonance (RR) de la solution modèle d'acide férulique observées entre 900 et 1800 cm^{-1} . Les valeurs de la distribution d'énergie potentielle supérieures à 10 % sont indiquées entre parenthèses.

$\bar{\nu}$ calculé (cm^{-1})	$\bar{\nu}$ RN (cm^{-1})	$\bar{\nu}$ RR (cm^{-1})	Attribution
982	991	986	$\nu_{\text{chaîne}}$ C-C(23) + $\delta_{\text{chaîne}}$ C-C-C(22%)
1138	-	1132	$\nu_{\text{chaîne}}$ C-O (26%) + δ_{cycle} H-C-C(17%) + $\delta_{\text{chaîne}}$ H-O-C(15%)
1206	1193	1194	δ_{cycle} H-C-C(22%) + $\tau_{\text{méthyl}}$ H-C-O-C(24%)
1226	1227	1223	δ_{cycle} H-C-C(33%) + $\tau_{\text{méthyl}}$ H-C-O-C(30%) + $\delta_{\text{méthyl}}$ H-C-H(12%)
1279	-	1278	δ_{cycle} H-C-C(18%) + δ_{cycle} O-C-C(17%) + $\delta_{\text{chaîne}}$ C=C-H(11%) + δ_{cycle} C-C-C(11%)
1299	-	1298	δ_{cycle} H-C-C(36%) + δ_{cycle} O-C-C(22%) + ν_{cycle} C-C(14%) + δ_{vinyl} C=C-H(11%)
1416	-	1396	ν_{cycle} C-C(30%) + δ_{cycle} H-C-C(30%)
1461	-	1433	ν_{cycle} C-C(30%) + $\delta_{\text{méthyl}}$ H-C-H(29%) + δ_{cycle} H-C-C(18%)
1486	-	1457	$\delta_{\text{méthyl}}$ H-C-H(48%) + ν_{cycle} C-C(24%)
1540	-	1519	δ_{cycle} H-C-C(41%) + ν_{hydroxyl} C-O(17%) + δ_{cycle} C-C-C(16%) + ν_{cycle} C-C(11%)

1624	1587	1591	ν_{cycle} C-C(52%) + δ_{cycle} C-C-C(30%)
1634	1600	1604	ν_{cycle} C-C(51%) + δ_{cycle} H-C-C(15%) + ν_{vinyl} C=C(11%)
1667	1631	1632	ν_{vinyl} C=C (44%) + ν_{cycle} C-C (17%) + $\nu_{\text{chaîne}}$ C-C (10%)
1743	1678	1684	ν_{carboxy} C=O (74%)

Symboles : ν = élongation, δ = déformation. Les indices précisent les groupements fonctionnels mettant en jeu les coordonnées internes indiquées.

Les modes de vibration les plus intenses vers 1600 cm^{-1} correspondent aux mêmes types de vibration que celles observées pour l'acide caféique, schématisées sur la Figure II-23.

II.4.1.3 Acide sinapique

Les spectres Raman de l'acide sinapique sont reportés dans la Figure II-25 pour les longueurs d'onde d'excitation de 532 (A) et 325 nm (B).

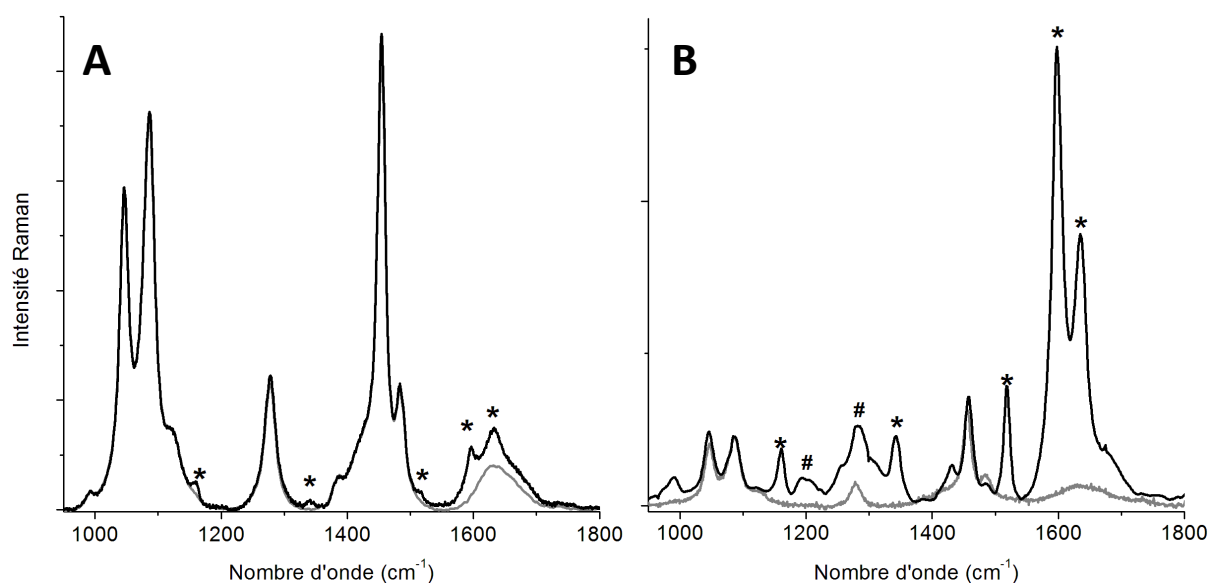


Figure II-25 : Spectres RN à 532 nm (A) et RR à 325 nm (B) de l'acide sinapique. Le fond de fluorescence a été soustrait du spectre RR de l'acide.

Là encore, nous observons l'exaltation * et l'apparition # de pics Raman dans le spectre obtenu pour une excitation à 325 nm par rapport à celui obtenu à 532 nm. La différence la plus importante est là encore située autour de 1600 cm^{-1} . Nous avons résumé l'attribution des raies RN et RR observées dans le Tableau II-8. L'écart entre les maxima des raies RR vers 1600 cm^{-1} est de 37 cm^{-1} (39 cm^{-1} calculés). Les facteurs d'exaltation des spectres RR sont ici aussi de 10 pour les pics vers 1200 cm^{-1} et de 30 pour le doublet vers 1600 cm^{-1} . Notons toutefois que les raies vers 1600 cm^{-1} mettent en jeu une distribution d'énergie potentielle différente de celles calculées pour les acides caféique et férulique. Ainsi le mode RR actif vers 1598 cm^{-1} (1627 cm^{-1} calculé) est dû à 57 % aux vibrations du cycle (Figure II-26), le mode vers 1635 cm^{-1} (calculé à 1666 cm^{-1}) est attribuable pour 50 % de l'énergie potentielle aux élongations C=C du groupement vinylique, impliquant un couplage plus faible avec le groupement catéchol que les deux autres acides. Nous observons également un pic fortement exalté à 1518 cm^{-1} qui n'est pas présent dans les spectres des deux autres acides analysés précédemment. D'après les calculs DFT, les vibrations vers 1500 cm^{-1} mettent en jeu majoritairement des déformations d'angle H-C-C des groupements méthyles. Or, nous avons vu que les vibrations mettant en jeu les élongations C-C du cycle donnaient naissance à des raies RR fortement exaltées. Dans cette région spectrale, seul le mode calculé à 1528 cm^{-1} implique une

contribution notable des vibrations du cycle. Nous attribuons donc la raie RR observée à 1518 cm^{-1} , qui est un bon marqueur spectroscopique pour cet acide, à la vibration schématisée sur la Figure II-26.

Tableau II-8 : Attribution des raies Raman « normal » (RN) et Raman de résonance (RR) de la solution modèle d'acide sinapique observées entre 900 et 1800 cm^{-1} . Les valeurs de la distribution d'énergie potentielle supérieures à 10 % sont indiquées entre parenthèses.

$\bar{\nu}$ calculé (cm^{-1})	$\bar{\nu}$ RN (cm^{-1})	$\bar{\nu}$ RR (cm^{-1})	Attribution
	991	988	
1141	1155	1160	$\nu_{\text{carbox}}\text{C-O}$ (41%) + $\delta_{\text{carbo}}\text{H-O-C}$ (23%)
1205	-	1201	$\delta_{\text{méthyl}}\text{H-C-H}$ (20%) + $\tau_{\text{méthyl}}\text{H-C-O-C}$ (57%)
1279	-	1284	$\nu_{\text{cycle}}\text{C-O}$ (20%) + $\delta_{\text{carbo}}\text{H-C=O}$ (16%) + $\delta_{\text{vinyl}}\text{H-C=C}$ (16%) + $\delta_{\text{cycle}}\text{H-C-C}$ (12%) + $\delta_{\text{cycle}}\text{C-C-C}$ (11%)
1324	1344	1342	$\nu_{\text{cycle}}\text{C-C}$ (19%) + $\delta_{\text{vinyl}}\text{H-C=C}$ (38%)
1415	-	1430	$\nu_{\text{cycle}}\text{C-C}$ (32%) + $\delta_{\text{hydroxyl}}\text{H-O-C}$ (16%) + $\nu_{\text{chaîne}}\text{C-C}$ (12%)
1528	-	1518	$\nu_{\text{cycle}}\text{C-C}$ (21%) + $\delta_{\text{cycle}}\text{H-C-C}$ (19%) + $\nu_{\text{hydroxyl}}\text{C-O}$ (19%) + $\delta_{\text{cycle}}\text{C-C-C}$ (15%)
1627	1595	1598	$\nu_{\text{cycle}}\text{C-C}$ (57%) + $\delta_{\text{cycle}}\text{H-C-C}$ (13%)
1666	1633	1635	$\nu_{\text{vinyl}}\text{C=C}$ (50%) + $\delta_{\text{vinyl}}\text{H-C=C}$ (18%)
1744	1687	1684	$\nu_{\text{carboxy}}\text{C=O}$ (74%)

Symboles : ν = élongation, δ = déformation. Les indices précisent les groupements fonctionnels mettant en jeu les coordonnées internes indiquées.

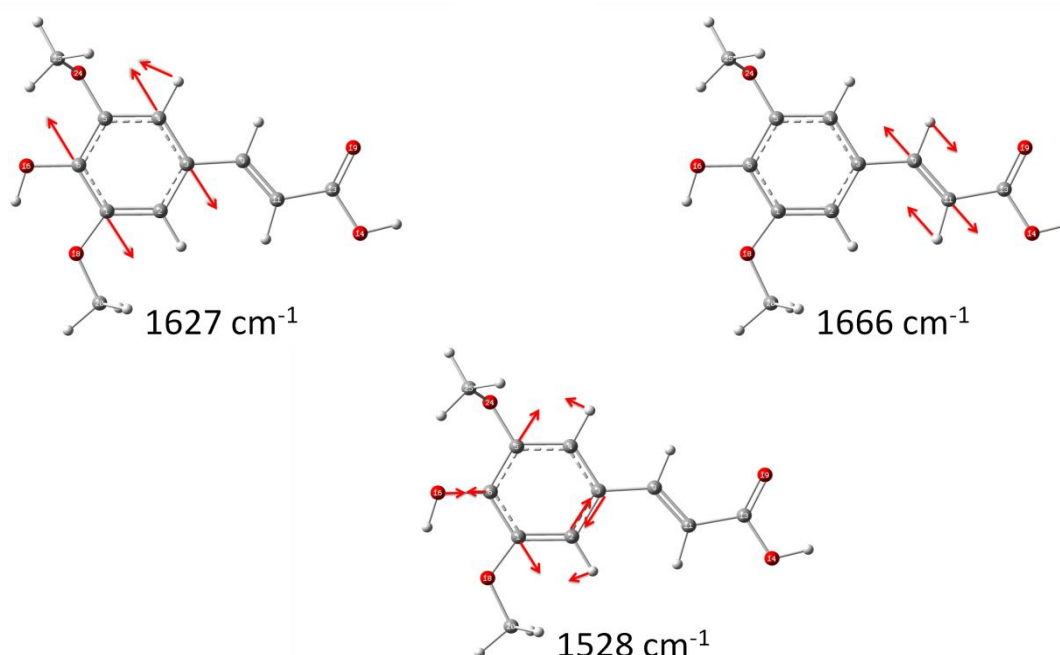


Figure II-26 : Représentation schématique des coordonnées internes impliquées dans les modes de vibration calculés à 1627 , 1666 et 1528 cm^{-1} de l'acide sinapique.

II.4.1.4 Acide p-coumarique

Les spectres Raman pour des excitations de 532 (A) et 325 (B) nm de l'acide p-coumarique sont présentés dans la Figure II-27.

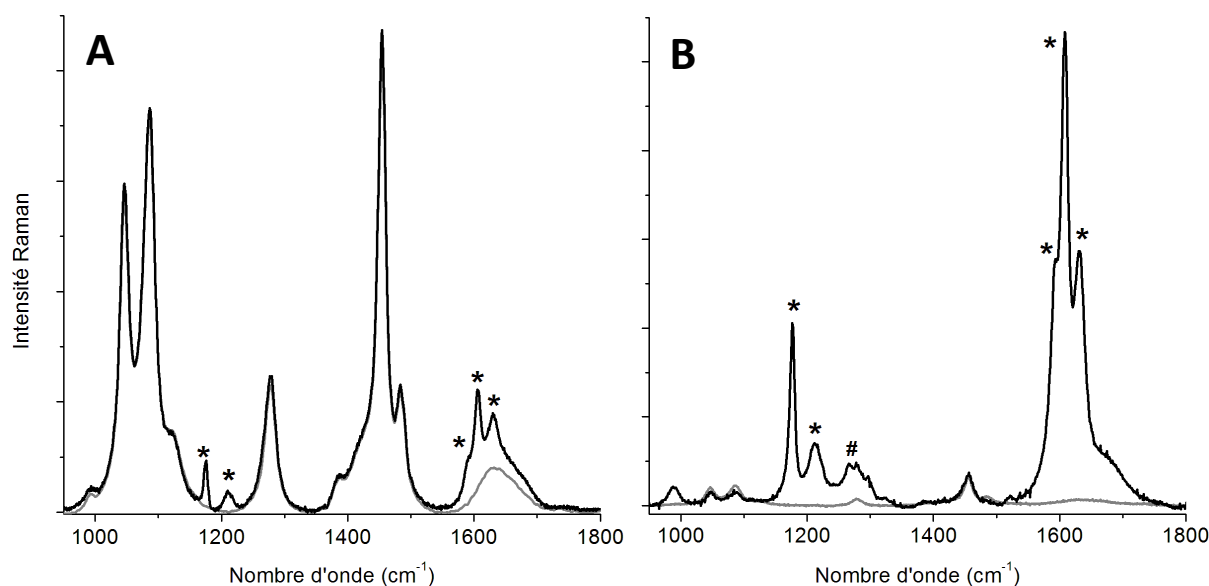


Figure II-27 : Spectres Raman à 532 nm (A) et à 325 nm (B) de l'acide p-coumarique. Le fond de fluorescence a été soustrait du spectre RR.

Contrairement aux autres acides hydroxycinnamiques, les spectres RR de l'acide p-coumarique présentent un seul pic supplémentaire large # vers 1274 cm^{-1} pour le spectre à 325 nm. Les pics de l'acide symbolisés par * sont fortement exaltés avec des facteurs de 35 vers 1200 cm^{-1} et de 40 vers 1600 cm^{-1} . Le spectre dans la région $1600\text{--}1630\text{ cm}^{-1}$ se distingue de celui des autres acides par le nombre et la position des maxima des raies. Le spectre de l'acide p-coumarique se particularise également par la présence d'un doublet intense, particulièrement visible sur le spectre RR, vers 1200 cm^{-1} . La nature des couplages des coordonnées internes est également différente puisque par exemple la distribution d'énergie potentielle de la coordonnée d'élongation C=O du groupement carboxylique est répartie sur 3 modes de vibrations au lieu d'être concentrée à 70 % sur la seule vibration vers 1700 cm^{-1} comme pour les acides étudiés précédemment. La coordonnée interne C=O est couplée aux élongations C=C du vinyle et C-C du cycle pour les raies RR observées à 1608 , 1631 et 1674 cm^{-1} . Pour l'acide p-coumarique, nous avons remarqué auparavant que les calculs DFT ne rendaient pas compte de manière très satisfaisante du spectre UV-visible de ce composé. Pour cette raison, nous devons considérer les calculs vibrationnels avec prudence. Nous avons résumé notre proposition d'attribution des raies RN et RR observées dans le Tableau II-9. Selon les calculs, nous devrions attribuer le massif RR observé à 1674 cm^{-1} sur les spectres de l'acide p-coumarique à la vibration d'énergie correspondante calculée à 1700 cm^{-1} . Cette vibration fait intervenir majoritairement la liaison C=C du vinyle. Ceci est assez contradictoire avec les résultats obtenus jusqu'à présent. Les modes de vibration calculés à 1629 , 1654 et 1700 cm^{-1} sont schématisés sur la Figure II-28. Notons que la raie RR fine et intense vers 1176 cm^{-1} , attribuée au mode de vibration des déformations H-C-C du cycle calculé à 1215 cm^{-1} schématisé sur la Figure II-28, devrait permettre d'identifier rapidement cet acide dans le spectre Raman d'un vin blanc.

Tableau II-9: Attribution des raies Raman « normal » (RN) et Raman de résonance (RR) de la solution modèle d'acide p-coumarique observées entre 900 et 1800 cm^{-1} . Les valeurs de la distribution d'énergie potentielle supérieures à 10 % sont indiquées entre parenthèses.

$\bar{\nu}$ calculé (cm^{-1})	$\bar{\nu}$ RN (cm^{-1})	$\bar{\nu}$ RR (cm^{-1})	Attribution
1143	990	988	ν_{hydroxyl} C-O (30%) + δ_{carboxy} C-O-H (19%) + ν_{cycle} C-C (11%) + δ_{cycle} H-C-C (17%) + δ_{vinyl} H-C=C (11%)
1215	1175	1176	δ_{cycle} H-C-C (59%) + ν_{cycle} C-C (23%)
1262	1213	1213	δ_{carboxy} C-O-H (38%) + ν_{carboxy} C=O (11%) + $\nu_{\text{chaîne}}$ C-C (12%)
1351	-	1274	δ_{vinyl} H-C=C (41%) + ν_{cycle} C-C (20%) + ν_{vinyl} C=C (17%)
1615	1590	1592	ν_{cycle} C-C (52%) + δ_{cycle} C-C-C (26%) + δ_{cycle} H-C-C (11%)
1629	1606	1608	ν_{cycle} C-C (29%) + ν_{carboxy} C=O (28%) + δ_{cycle} H-C-C (12%) + $\nu_{\text{chaîne}}$ C-C (10%)
1654	1630	1631	ν_{carboxy} C=O (32%) + ν_{cycle} C-C (31%) + δ_{cycle} H-C-C (11%)
1700	1679	1674	ν_{vinyl} C=C (51%) + δ_{vinyl} H-C=C (22%) + ν_{carboxy} C=O (10%)

Symboles : ν = élongation, δ = déformation. Les indices précisent les groupements fonctionnels mettant en jeu les coordonnées internes indiquées.

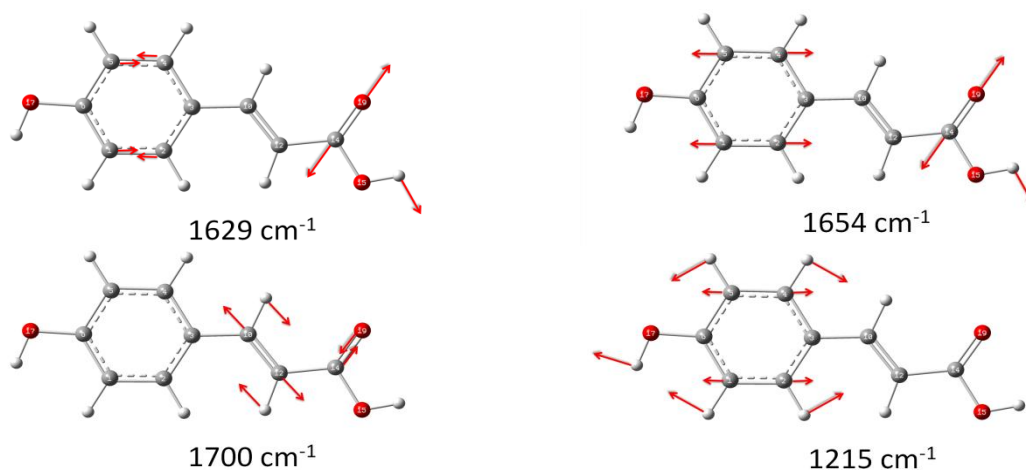


Figure II-28 : Représentation schématique des coordonnées internes impliquées dans les modes de vibration calculés à 1629, 1654, 1700 et 1215 cm^{-1} de l'acide p-coumarique.

II.4.2 Acide hydroxycinnamique lié : acide caftarique

Nous allons maintenant comparer les spectres Raman obtenus des acides hydroxycinnamiques libre (caféique) et lié (caftarique) pour des excitations à 532 et 325 nm, reportés dans la Figure II-29.

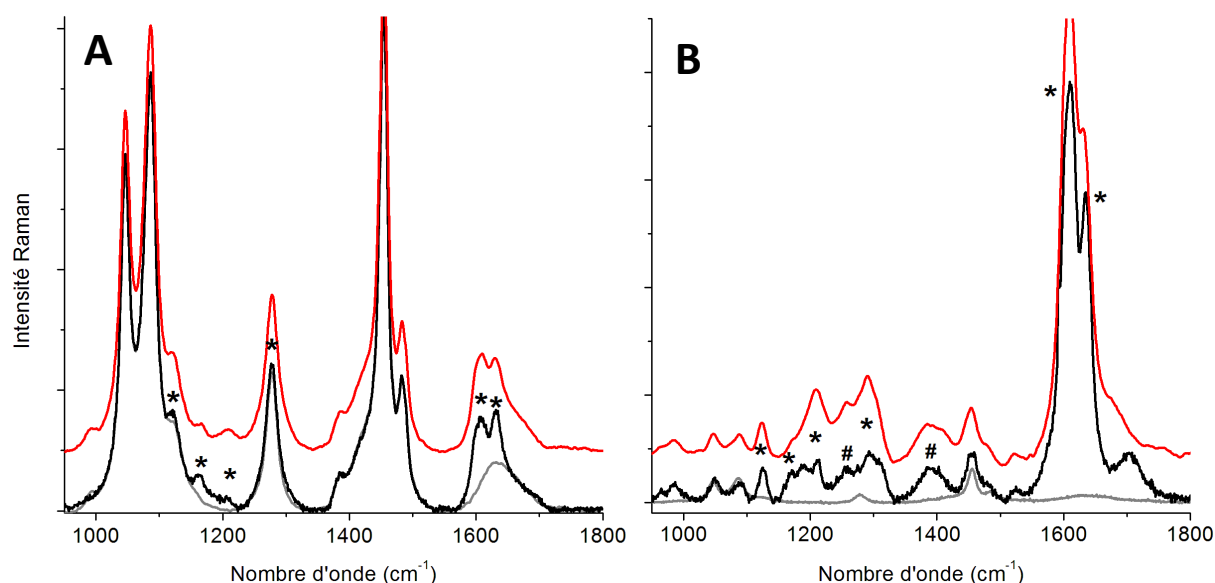


Figure II-29 : Spectres Raman à 532 nm (A) et à 325 nm (B) de l'acide caftarique (noir), de la solution mère (gris) et de l'acide caféique (rouge). Le fond de fluorescence a été soustrait des spectres RR des acides.

En observant les spectres Raman obtenus avec une excitation de 532 nm, nous ne constatons que des différences très faibles entre les deux acides. En effet, nous retrouvons les mêmes pics RN dans les Tableau II-6 et Tableau II-10. Des différences plus notables sont observables sur les spectres RR, celui de l'acide caftarique présentant quelques raies supplémentaires dans la région 1100 - 1300 cm⁻¹ par rapport à celui de l'acide caféique. L'analyse des modes de vibration et des énergies potentielles obtenus par le calcul montre que les vibrations des deux parties de la molécule, la partie caféique et la partie tartrique, ne sont pratiquement jamais couplées, au moins pour des nombres d'onde supérieurs à 900 cm⁻¹. Ainsi, par exemple, les vibrations C=O des groupements carboxyliques de la partie tartrique calculées vers 1800 cm⁻¹ sont pures à plus de 84 %. Pour la partie caféique, la raie à 1704 cm⁻¹ est à 78 % due à l'élongation C=O du groupement carboxylique et apparaît sur le spectre RR bien détachée du massif vers 1600 cm⁻¹. Nous pouvons donc considérer que les vibrations de l'acide caftarique résultent essentiellement de la superposition de celles des deux moitiés caféique et tartrique de la molécule. Dans ce contexte, il n'est pas étonnant que les spectres RR des acides caféique et caftarique soient similaires, sans être strictement identiques. Nous avons mentionné ci-dessus que les principales différences observées entre les spectres RR des deux acides se situent dans la région 1100 – 1300 cm⁻¹. Il est intéressant de noter que, selon la proposition d'attribution des modes de vibration du Tableau II-10, les coordonnées internes mises en jeu correspondent à la partie acide tartrique de la molécule avec en particulier l'implication des liaisons C-O qui assurent la jonction entre les 2 parties de la molécule. Nous avons remarqué que les électrons π associés à ces liaisons participent aux orbitales moléculaires mises en jeu à la transition HOMO – LUMO de l'acide caftarique.

Tableau II-10 : Attribution des raies Raman « normal » (RN) et Raman de résonance (RR) de la solution modèle d'acide caftarique observées entre 900 et 1800 cm⁻¹. Pour distinguer les groupements fonctionnels associés à la partie acide tartrique de la molécule, la lettre majuscule « T » précède leur nom abrégé.

$\bar{\nu}$ calculé (cm ⁻¹)	$\bar{\nu}$ RN (cm ⁻¹)	$\bar{\nu}$ RR (cm ⁻¹)	Attribution
993		986	δ_{cycle} C-C-C(26%) + ν_{cycle} C-C (10%) + δ_{cycle} H-C-C (10%)
1066	-	1050	$\nu_{\text{Tchaîne}}$ C-O (46%) + $\nu_{\text{Tchaîne}}$ C-C (18%)
1129	-	1088	δ_{cycle} H-C-C (22%) + δ_{cycle} C-C-C(22%) + ν_{cycle} C-C (14%) + δ_{cycle} C-C-C(10%)
1157	1125	1125	$\nu_{\text{Tchaîne}}$ C-O (19%) + $\nu_{\text{chaîne}}$ C-C (16%) + $\delta_{\text{chaîne}}$ H-C-C(12%) + δ_{carboxyl} O-C-O (12%)
1210	1161	1170	δ_{cycle} H-C-C(29%) + δ_{carboxy} H-O-C (28%) + ν_{cycle} C-C (24%)
1237	-	1192	δ_{Thydroxy} H-O-C(57%)
1267	1208	1212	δ_{Tcarboxy} H-O-C (27%) + τ_{T} H-C-O-C (24%) + $\delta_{\text{Tchaîne}}$ H-O-C (10%)
1303	-	1256	ν_{cycle} C-O (35%) + δ_{cycle} H-C-C (24%) + δ_{cycle} C-C-C(16%) + ν_{cycle} C-C (14%) + $\delta_{\text{chaîne}}$ H-C-C (11%)
1335	-	1294	ν_{cycle} C-C (21%) + δ_{T} H-C-O (13%) + δ_{Tcarboxy} H-O-C (12%) + δ_{cycle} C-C-C(10%)
1373	-	1313	δ_{T} H-C-O (41%) + ν_{Thydroxy} C-O (10%)
1410	-	1392	ν_{cycle} C-C (32%) + δ_{hydroxyl} H-O-C(31%)
1479	-	1482	ν_{cycle} C-C (32%) + δ_{cycle} C-C-C(17%)
1552	-	1527	δ_{cycle} H-C-C(29%) + ν_{cycle} C-C (19%) + ν_{hydroxyl} H-O-C (12%)
1629	-	1582	ν_{cycle} C-C (59%) + δ_{cycle} C-C-C(18%)
1636	1605	1609	ν_{cycle} C-C (42%) + δ_{cycle} C-C-C(16%) + ν_{vinyl} C=C (14%)
1667	1632	1636	ν_{vinyl} C=C (39%) + ν_{cycle} C-C (21%)
1736	1672	1704	ν_{carbox} C=O (78%)

II.4.3 Acide hydroxybenzoïque : acide gallique

Dans la Figure II-30 sont présentés les spectres Raman de l'acide gallique pour les excitations de 532 nm (A) et 325 nm (B). L'excitation à 325 nm ne correspond pas au maximum d'absorption UV-visible pour l'acide hydroxybenzoïque, contrairement aux acides hydroxycinnamiques. Le spectre réalisé à 325 nm se situe dans une zone de pré-résonance électronique et un effet d'intensification du spectre peut se produire.

Dans la Figure II-30-A, nous pouvons constater que le spectre de l'acide gallique à 532 nm ne présente que de très faibles différences avec celui de la solution mère. Nous remarquons seulement un épaulement à 1622 cm⁻¹ du pic vers 1650 cm⁻¹ attribué à l'eau de la solution. Le spectre enregistré à 325 nm (Figure II-30-B) est cependant assez différent de celui obtenu à 532 nm, avec augmentation de l'intensité des raies vers 1600 cm⁻¹ et l'apparition de nouveaux pics. Les exaltations des raies Raman sont notables pour l'excitation à 325 nm mais leurs intensités n'ont rien de comparable avec celles observées sur les spectres des acides hydroxycinnamiques. Nous pouvons donc affirmer que les pics RR intenses observés dans les vins blancs sont bien attribuables aux acides hydroxycinnamiques. Nous avons reporté dans le Tableau II-11 notre proposition d'attribution des raies Raman observées aux deux longueurs d'onde d'excitation. Nous constatons là encore que les pics RR sont en majorité attribuables aux vibrations du cycle.

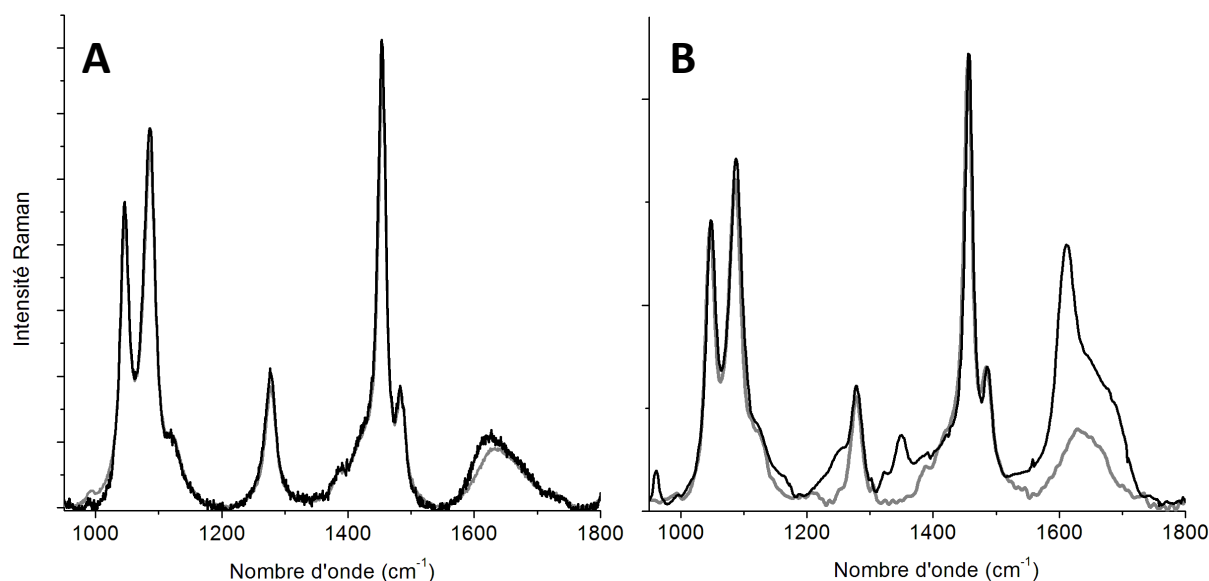


Figure II-30 : spectres Raman à 532 nm (A) et à 325 nm (B) de l'acide gallique dont la fluorescence a été soustraite

Tableau II-11 : Attributions des raies Raman « normal » (RN) et Raman de résonance (RR) de la solution modèle d'acide gallique observées entre 900 et 1800 cm^{-1} . Les valeurs de la distribution d'énergie potentielle supérieures à 10 % sont indiquées entre parenthèses.

$\bar{\nu}$ calculé (cm^{-1})	$\bar{\nu}$ RN (cm^{-1})	$\bar{\nu}$ RR (cm^{-1})	Attribution
	-	961	
1175	-	1247	δ_{cycle} H-C-C(51%) + $\nu_{\text{chaîne}}$ C-C (10%) + ν_{cycle} C-O (14%)
1339	-	1348	ν_{cycle} C-O (17%)+ δ_{hydrox} H-O-C (37%)
1407	-	1420	ν_{cycle} C-C (29%) + ν_{cycle} C-O (24%) + δ_{hydrox} H-O-C(18%)
1496	-	1487	ν_{cycle} C-C (45%) + δ_{hydrox} H-O-C(20%) + ν_{cycle} C-O (10%)
1649	1622	1611	ν_{cycle} C-C (50%) + δ_{cycle} C-C-C(33%)

Symboles : ν = élongation, δ = déformation. Les indices précisent les groupements fonctionnels mettant en jeu les coordonnées internes indiquées.

II.5 Résumé des résultats obtenus

Les différents acides phénoliques présentent des spectres Raman qui permettent leur identification. Cependant, aux faibles concentrations auxquelles ils se trouvent dans les vins blancs, il n'est pas possible de les identifier sans l'exaltation du signal Raman par effet de résonance électronique. Ainsi, l'étude des acides hydroxycinnamiques doit être réalisée vers 325 nm qui est l'un des maxima de leur absorption. Pour chaque acide libre que nous avons étudié, les calculs de chimie quantique DFT nous ont permis d'attribuer l'ensemble des raies Raman observées entre 900 et 1800 cm^{-1} . Les raies vers 1600 - 1700 cm^{-1} sont particulièrement intenses et nous observons dans la plupart des cas deux maxima, le premier pic vers 1600 cm^{-1} attribué aux élongations C-C du cycle phénolique et le second vers 1630 cm^{-1} attribuable aux vibrations d'élongation du groupement vinylique $-\text{HC}=\text{CH}-$ de la molécule. Dans l'ensemble, l'accord entre les positions des raies calculées et des raies observées est très bon si nous tenons compte d'un facteur de correction $\alpha = 0,97$. Le Tableau II-12 reprend ces valeurs. Notons qu'à mesure que des groupements fonctionnels méthoxyles ou hydroxyles viennent se substituer en positions méta du cycle catéchol, l'écart Δ entre

ces maxima, aussi bien expérimental que calculé, augmente (Tableau II-12). Pour l'acide caftarique, cet écart ne semble pas particulièrement affecté par l'estérification de l'acide caféique par l'acide tartrique. Nous en concluons que les spectres Raman de résonance des vins blancs permettront de rendre compte de leur composition en acides hydroxycinnamiques, qu'ils soient sous formes libres ou associées.

Tableau II-12 : Comparaison des nombres d'onde calculés et expérimentaux pour les raies attribuées aux elongations $\nu_{\text{vinyl}}\text{C}=\text{C}$ du groupement vinylique $-\text{HC}=\text{CH}-$ et aux elongations $\nu_{\text{cycle}}\text{C}-\text{C}$ des liaisons C-C du groupement phénolique.

Acides hydroxy-cinnamiques	$\bar{\nu}$ calculé* (cm^{-1}) $\nu_{\text{vinyl}}\text{C}=\text{C}$	$\bar{\nu}$ RR (cm^{-1}) $\nu_{\text{vinyl}}\text{C}=\text{C}$	$\bar{\nu}$ calculé* (cm^{-1}) $\nu_{\text{cycle}}\text{C}-\text{C}$	$\bar{\nu}$ RR (cm^{-1}) $\nu_{\text{cycle}}\text{C}-\text{C}$	$\Delta_{\text{calculé}} (\text{cm}^{-1})$	$\Delta_{\text{expérimental}} (\text{cm}^{-1})$
p-coumarique	1604	1631	1580	1608	24	23
caféique	1620	1634	1589	1608	31	26
caftarique	1617	1636	1587	1609	30	27
férule	1617	1632	1585	1604	32	28
sinapique	1616	1635	1578	1598	38	37

* Valeurs corrigées d'un facteur $\alpha = 0,97$

Contrairement à l'absorption UV-visible et à la fluorescence, la diffusion Raman permet non plus d'identifier une famille d'acides mais de reconnaître précisément les espèces moléculaires pour la famille des acides hydroxycinnamiques. En effet, chaque acide phénolique a un spectre Raman caractéristique. Nous avons pu identifier pour chacun de ces acides, particulièrement pour l'acide p-coumarique et l'acide sinapique, des raies intenses et isolées mettant en jeu les coordonnées internes de déformation d'angle des cycles phénoliques. En Raman classique, les pics Raman des acides sont visibles pour des concentrations supérieures à 100 mg/L alors que pour une excitation de 325 nm, il y a forte exaltation du signal Raman pour les acides hydroxycinnamiques. Il est alors possible d'identifier ces acides même pour des concentrations de l'ordre de quelques mg/L et certainement de quantifier les différentes molécules d'acides hydroxycinnamiques qui entrent dans la composition des vins blancs.

En effet, des pics de résonance sont également visibles dans les spectres de vins. Il apparaît donc que les raies intenses observées sur les spectres Raman des vins blancs avec une excitation à 325 nm sont bien attribuables aux acides hydroxycinnamiques exclusivement. L'acide gallique est, à cette longueur d'onde, en condition de pré-résonance électronique et le facteur d'exaltation des raies attribuées aux vibrations du cycle phénolique est négligeable comparé à celui observé pour les acides hydroxycinnamiques. En comparant dans la Figure II-31, les spectres de diffusion Raman à 325 nm des solutions modèles d'acides hydroxycinnamiques au spectre du vin blanc sec, nous remarquons de fortes ressemblances entre les spectres de l'acide p-coumarique et du vin blanc sec. En effet, nous retrouvons sur le spectre du vin blanc sec les raies caractéristiques de cet acide à 1190 et 1230 cm^{-1} et l'écart en nombre d'onde des maxima vers 1600 cm^{-1} est de 23 cm^{-1} pour l'acide p-coumarique et de 24 cm^{-1} pour le vin.

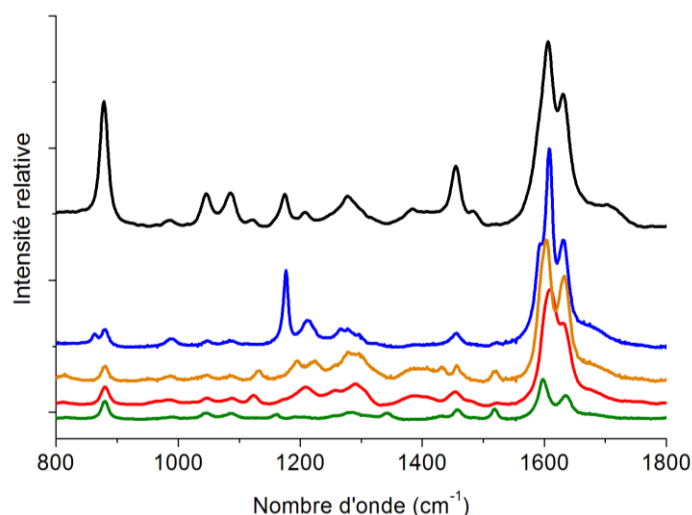


Figure II-31 : spectre Raman à 325 nm du vin blanc sec (noir) et des solutions modèles d'acide phénoliques : l'acide p-coumarique (bleu), l'acide caféique (rouge), l'acide férulique (orange) et l'acide sinapique (vert)

En réalisant une somme pondérée approximative des spectres des quatre acides « libres » et de la solution mère, on peut parvenir à reproduire assez bien le spectre du vin blanc, comme nous pouvons le constater sur la Figure II-32.

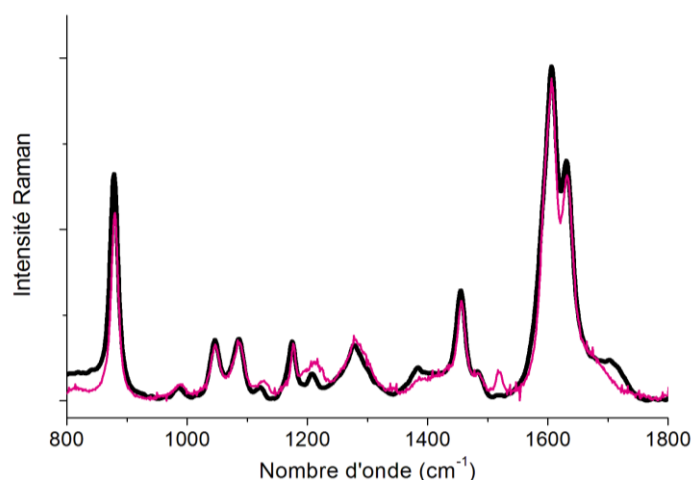


Figure II-32 : Spectre Raman à 325 nm du vin blanc sec (noir) et de la somme pondérée des acides

Tableau II-13 : Facteur de pondération des différents acides et de la solution mère pour ajuster le vin blanc sec

Acide	p-coumarique	caféique	férulique	sinapique	Solution mère
facteur	1	4	12	17	112

En effet, dans la zone autour de 1200 cm^{-1} , le doublet observé pour le vin blanc sec est comparable à celui de l'acide p-coumarique. Le doublet de résonance vers 1600 cm^{-1} est proche de celui de l'acide férulique. A partir d'une simple somme pondérée (Tableau II-13), il est possible de quantifier les concentrations relatives des différents acides hydroxycinnamiques. Or, nous constatons également des zones où l'accord est moins bon, comme le pic 1517 cm^{-1} (suggérant que la proportion

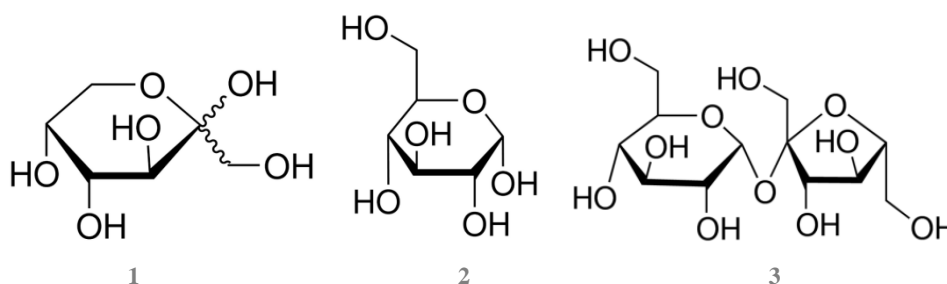
d'acide sinapique dans le profil reconstitué est trop importante) ou la bande large vers 1710 cm^{-1} . Quelques solutions modèles manquent encore pour compléter cette analyse.

En ce qui concerne le vin blanc sucré, nous ne sommes pas parvenus à modéliser le spectre de manière satisfaisante à l'aide de ces quatre solutions modèles d'acides. Notre échantillonnage de solutions modèles est insuffisant.

III Etude des sucres

Dans le chapitre 1.II. : « Les essais préliminaires de différentes spectroscopies optiques sur le vin », nous avons remarqué une différence au niveau des spectres Raman entre les vins blancs secs et moelleux. Nous avons fait la supposition que les nouveaux pics étaient dus à la présence de sucres en différentes quantités entre ces deux vins ; moins de 5 g/L dans le vin blanc sec, entre 20 et 45 g/L dans le vin blanc moelleux et plus de 45 g/L dans le vin blanc liquoreux selon la législation.

Le premier sucre de la vigne est le saccharose ; il provient de la photosynthèse. Il va circuler dans tous les organes de la plante pour permettre sa croissance. Quand il est stocké au niveau de la baie, le saccharose est entièrement hydrolysé par l'invertase (une enzyme) pour produire le glucose et le fructose. Ce sont les deux sucres que l'on trouve dans le vin, le glucose étant consommé prioritairement lors de la fermentation alcoolique. Dans le vin, le rapport des concentrations du fructose sur le glucose évolue de 1 pour de faibles concentrations en sucres à 4 pour les plus fortes concentrations (soit environ 120 g/L).



Produits Sigma : 1) - le D-(-)-Fructose, 2) - le D-(+)-Glucose et 3) - le D-(+)-Saccharose

Dans cette partie, nous étudierons les solutions modèles de ces trois sucres à l'aide des spectroscopies d'absorption UV-visible et de diffusion Raman. Les trois glucides sont répartis en trois familles de solutions modèles à différentes concentrations allant de 10 à 200 g/L. Contrairement à la stratégie adoptée jusqu'à présent, nous n'allons pas calculer les propriétés électroniques et vibrationnelles de modèles moléculaires de ces sucres. L'optimisation de ces structures est une tâche ardue en raison du grand nombre de conformations possibles. Peut-être ceci explique-t-il l'absence quasi-totale dans la littérature de données expérimentales ou théoriques sur les propriétés électroniques et vibrationnelles de ces molécules. Nous allons donc nous contenter d'une analyse qualitative des spectres UV-visible et Raman de solutions modèles de ces sucres pour interpréter nos observations préliminaires sur le vin blanc moelleux.

III.1 L'absorption UV-visible

Comme pour les acides, les solutions modèles de sucre ont été étudiées par spectrométrie d'absorption UV-visible. Nous retrouvons les spectres des trois sucres dans la Figure III-1.

Les trois sucres présentent des spectres d'absorption UV-visible spécifiques et n'absorbent pas au-dessus de 350 nm. Le fructose présente un maximum d'absorption vers 280 nm d'environ 0,25 unité d'absorbance pour une concentration de 100 g/L, soit 0,55 mol/L, alors que les deux autres sucres présentent des absorptions dans le même domaine beaucoup plus faibles. Cette absorbance doit être dû à des impuretés car ce sucre ne présente pas de groupement chromophore. La solution modèle de glucose a une absorbance de 0,008 pour une concentration de 100 g/L, soit 0,55 mol/L, et celle de saccharose 0,011 pour une concentration de 100 g/L soit 0,29 mol/L. L'absorption pour 325 nm est très faible pour les trois sucres, n'entraînant pas de fluorescence pour une excitation supérieure à 325nm.

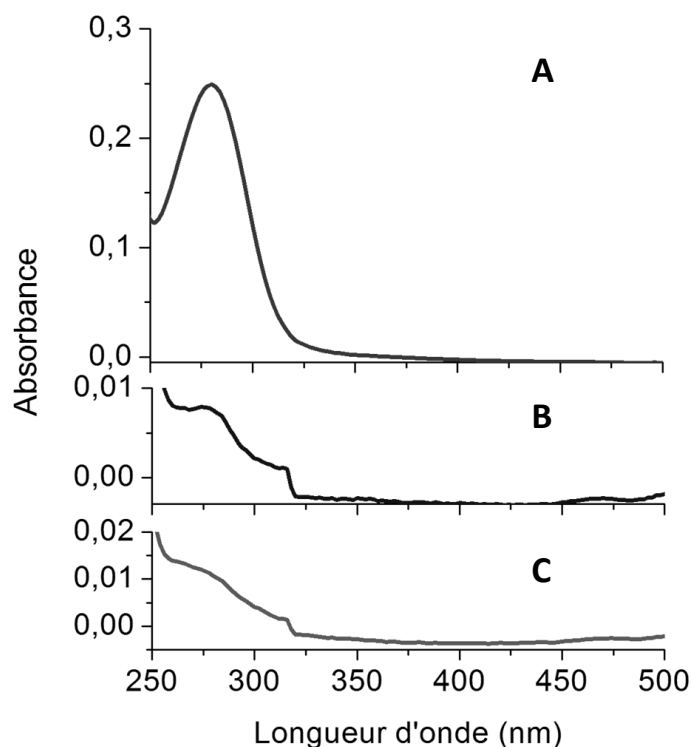


Figure III-1 : Spectres d'absorption UV-visible du fructose (A), du glucose (B) et du saccharose (C) à 100 g/L

III.2 La diffusion Raman

Les spectres Raman des solutions modèles des sucres ne présentent pas de fluorescence aux longueurs d'onde d'excitation disponibles ($\lambda > 325$ nm). Les trois spectres Raman présentés dans la Figure III-2 correspondent aux spectres de diffusion Raman des trois solutions modèles de sucres à 100 g/L pour une excitation à 532 nm sur le domaine 250 à 1800 cm^{-1} . Très peu de données dans la littérature [73]–[78] sont disponibles concernant l'attribution des raies Raman de ces sucres, les travaux les plus conséquents étant relatifs au glucose. Nous allons donc présenter nos résultats en commençant par l'étude de la solution modèle de glucose puis extrapolerons notre analyse à l'étude des solutions modèles de fructose puis de saccharose.

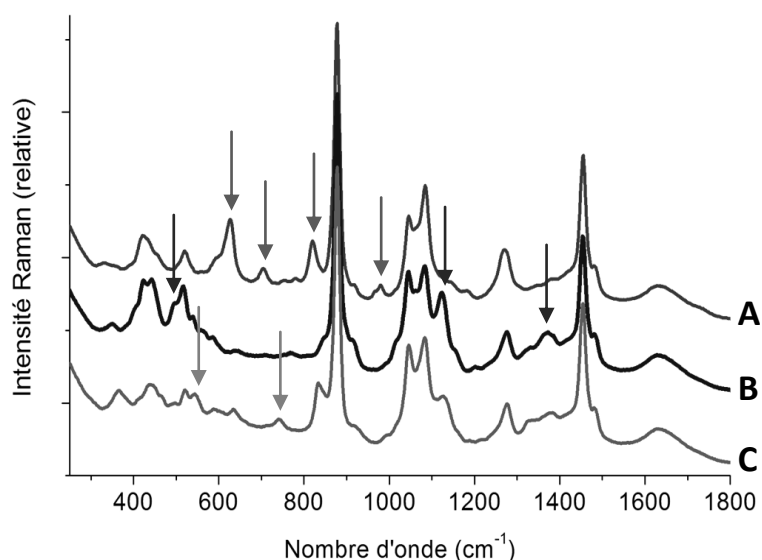


Figure III-2 : Spectres Raman à 532 nm des solutions modèles de fructose (A), de glucose (B) et de saccharose (C) à des concentrations de 100 g/L.

Nous avons reporté dans le Tableau III-1 les nombres d'onde des maxima des raies Raman attribuées au glucose à partir du spectre de la solution modèle, comparés aux données de la littérature [73]–[75].

Tableau III-1: Attribution des pics Raman du glucose

$\bar{\nu}$ (cm ⁻¹) solution modèle	$\bar{\nu}$ (cm ⁻¹) solution aqueuse [73]	$\bar{\nu}$ (cm ⁻¹) solution aqueuse [74]	$\bar{\nu}$ (cm ⁻¹) solution aqueuse [75]	Attribution [74]
351	355	342		δ C-C-O
403	-	409		δ C-C-O
422	424	425		δ C-C-O + δ C-C-C
444	450	443		δ C-C-O + δ C-C-C
496	-	498		δ C-C-O + δ O-C-O
515	518	514		δ C-C-O + δ O-C-O
539	540	541		δ C-C-O + δ O-C-O
564	-	-		
587	585	-		
641	645	633		δ C-C-O + δ C-C-H
711	710	705		δ C-C-O + δ C-C-H
772	770	771		ν C-O + δ C-C-O + ν C-C
846*	842	847		ν C-O + δ C-C-H
862*	860	859		ν C-O + δ C-C-H
896	893	898		ν C-C + ν C-O
915	910	913		
1018	-	1020	1018	ν C-C + δ O-C-H
1036*	1035	1041		ν C-O + ν C-C
1064*	1060	1071	1060	ν C-O + ν C-C
1122	1120	1130	1124	ν C-O + ν C-C
1154*	-	1152	1150	ν C-O + ν C-C + δ C-O-H
1203*	-	1206		ν C-O + δ C-O-H + δ C-C-H
1234		1222		δ C-O-H + δ O-C-H
1263*	1258	1278	1260	δ C-C-H + δ O-C-H
-	-	1298		δ O-C-H + δ C-C-H

$\bar{\nu}$ (cm ⁻¹) solution modèle	$\bar{\nu}$ (cm ⁻¹) solution aqueuse [73]	$\bar{\nu}$ (cm ⁻¹) solution aqueuse [74]	$\bar{\nu}$ (cm ⁻¹) solution aqueuse [75]	Attribution [74]
1332	1327	1335	1336	δ C-C-H + δ C-O-H
1367	1360	1373	1372	δ C-C-H + δ O-C-H + δ C-O-H
1460*	1455	1461		δ O-C-H + δ H-C-H

Symboles : ν = élongation, δ = déformation d'angle.

En général, il y a un excellent accord entre nos propres observations et celles issues de ces travaux antérieurs réalisés avec une longueur d'onde de 514,5 nm. Le travail d'attribution des raies Raman le plus conséquent, c'est-à-dire s'appuyant sur des calculs de modes normaux basés sur un champ de force empirique, est celui de P. D. Vasko et al. [74]. Le spectre Raman de la solution modèle de glucose (Figure III-2) révèle un certain nombre de raies pouvant servir de marqueurs pour identifier le glucose dans le vin, par exemple le pic vers 1122 cm⁻¹ attribué aux vibrations d'élongation des liaisons C-O et C-C de la molécule. Ainsi en utilisant une raie Raman de l'éthanol comme référence, il est possible de déterminer la concentration en glucose dans du vin blanc sucré.

De façon similaire, nous avons reporté dans le Tableau III-2 les raies Raman attribuées au fructose à partir du spectre de la solution modèle comparées aux données de la littérature [77].

Tableau III-2 : Attribution des pics de diffusion Raman du fructose: ν = élongation, δ = déformation d'angle, t = twisting des méthylènes -CH₂-, w = wagging des méthylènes -CH₂.

$\bar{\nu}$ (cm ⁻¹) solution modèle	$\bar{\nu}$ (cm ⁻¹) solution aqueuse [77]	Attribution [77]
333		
352	344	δ_{cycle} C-O-C
418*	428	δ_{cycle} C-C-C
456	460	δ_{cycle} C-C-C
520	530	δ_{cycle} C-C-O
627	636	δ_{methanol} C-C-O
705	712	δ_{cycle} C-C-O
753	-	-
779	-	-
866*	874	ν_{cycle} C-C
918	922	δ_{cycle} C-C-H
980	986	δ_{cycle} C-C-H
1064*	1068	ν_{cycle} C-O et/ou ν_{hydroxyl} C-O
1082*	1086	δ_{cycle} C-O-H
1146	1150	ν_{cycle} C-O
1184	1186	ν_{cycle} C-O
1266*	1266	t_{cycle} -CH ₂
1374	1376	w_{cycle} -CH ₂
1458*	1460	δ_{cycle} -CH ₂

* : épaulements des raies plus intenses de l'éthanol

En général, il y a ici aussi un excellent accord entre nos propres observations et celles issues de ces travaux antérieurs réalisés avec une longueur d'onde de 514,5 nm. Il est bien évident que ces attributions doivent être considérées comme étant très approximatives.

La raie Raman à 627 cm^{-1} est particulièrement intéressante car elle est intense et se situe dans une zone spectrale ne présentant que peu d'autres pics. L'intensité des raies Raman étant proportionnelle à la concentration de la solution, il est possible de doser le fructose déjà pour des concentrations de l'ordre de 10 g/L .

Pour finir, nous avons reporté dans le Tableau III-3 les raies Raman observées pour la solution modèle de saccharose. Ici aussi nos valeurs sont comparées avec celles issues de la littérature [78].

Tableau III-3 : Tentative d'attribution des pics de diffusion Raman de la solution modèle de saccharose

$\bar{\nu}\text{ (cm}^{-1}\text{)}$ solution modèle	$\bar{\nu}\text{ (cm}^{-1}\text{)}$ solution aqueuse[78]	Attribution
365	374	$\delta\text{ C-C-O} + \delta\text{ O-C-O}$
410	416	
449	450	
467	470	
497		
519	528	
544	548	
590	600	
637	640	$\delta\text{ C-C-O} + \delta\text{ C-C-H}$
740	746	$\nu\text{ C-O}$
834	836	
919	920	$\nu\text{ C-C} + \nu\text{ C-O}$
1061*	1060	
1127	1120	$\nu\text{ C-O} + \delta\text{ C-O-H} + \delta\text{ C-C-H}$
1266*	1266	
1328	1340	$\delta\text{ C-C-H} + \delta\text{ O-C-H} + \delta\text{ C-O-H}$
1367	1366	
1457*	1456	$\delta\text{ O-C-H} + \delta\text{ H-C-H}$

* : épaulements des raies plus intenses de l'éthanol

Le spectre Raman de la solution modèle de saccharose présente un certain nombre de points communs avec celui de la solution de glucose. Il en résulte que les marqueurs spectroscopiques spécifiques à cette molécule sont de relativement faible intensité et qu'il pourrait être difficile de doser, dans une solution comprenant un mélange des trois sucres, la quantité de saccharose.

Nous pouvons maintenant analyser le spectre Raman du vin moelleux en nous référant aux mesures réalisées sur les solutions modèles de sucres. Nous avons pour cela décomposé à l'aide de profils composites Gaussien-Lorentziens les spectres enregistrés à 532 et 785 nm et listé dans le Tableau III-4 les raies attribuables au fructose ou au glucose. Comme illustré sur la Figure III-3, les raies caractéristiques du fructose sont facilement identifiables sur le spectre du vin moelleux, le glucose n'étant présent qu'en bien plus faible quantité.

Tableau III-4 : Attribution des pics Raman observés dans les vins pour des excitations de 532 nm et 785 nm

$\bar{\nu}$ (cm ⁻¹) excitation 532 nm	$\bar{\nu}$ (cm ⁻¹) excitation 785 nm	
420	420	Fructose + Glucose
522	517	Fructose + Glucose
627	629	Fructose
823	824	Fructose
980	981	Fructose
1068	1068	Fructose + Glucose
1148	1146	Fructose
1265	1265	Fructose + Glucose
1455	1461	Fructose + Glucose

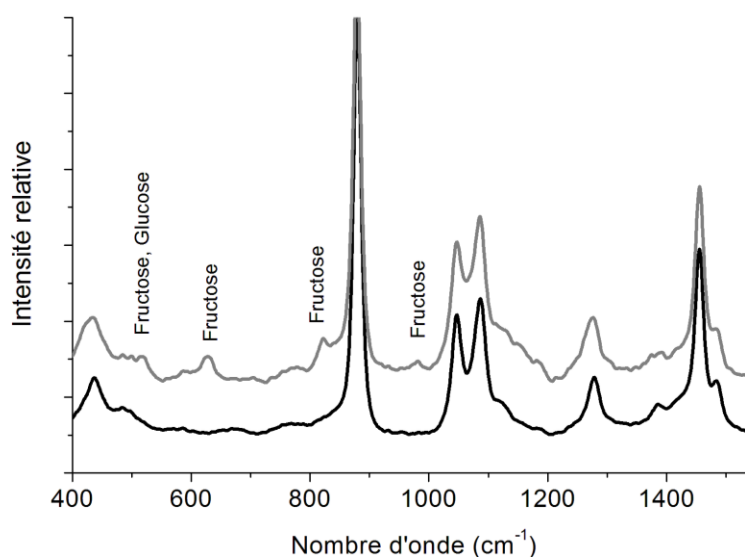


Figure III-3: Spectre Raman de vin blanc sec (bleu) et moelleux (rouge) avec l'attribution des raies caractéristiques des sucres.

En comparant l'intensité des pics observés dans le vin blanc moelleux avec les solutions modèles de sucre réalisées, nous pouvons doser approximativement le fructose contenu dans le vin à un peu moins de 40 g/L ce qui est cohérent avec la législation. Pour rappel, ce type de vin en contient entre 20 et 45 g/L.

IV Conclusion

A travers ce chapitre, nous avons établi l'origine de certaines réponses optiques des vins blancs que cela soit en absorption UV-visible, en émission de fluorescence et en diffusion Raman. Pour cela, nous avons réalisé des solutions modèles à partir d'une solution mère. La solution mère n'absorbe pas le rayonnement pour des longueurs d'onde supérieures à 250 nm. Aucune émission de fluorescence ne sera observée dans nos spectres où les longueurs d'onde d'excitation sont supérieures à 325 nm. Les raies Raman de l'eau et de l'éthanol des solutions modèles nous permettent de normaliser les intensités des spectres Raman.

Nous avons montré que les acides hydroxycinnamiques ont un maximum d'absorption vers 325 nm. A cette longueur d'onde d'excitation, le maximum d'émission de fluorescence est observé

vers 450 nm. De plus, un spectre Raman de résonance intense des acides est observé pour une excitation à 325 nm dont les raies ont pu être attribuées pour chaque acide étudié. Les formes estérifiées de ces acides ont des réponses optiques similaires. Les acides hydroxybenzoïques ont quant à eux des spectres bien différents qui les distinguent facilement des autres acides phénoliques. Nous avons ainsi montré que l'émission de fluorescence et des raies Raman de résonance observés sur les vins blancs ne sont pas attribuables à ces acides.

Le fait que des spectres Raman exploitables des acides hydroxycinnamiques et des sucres dans les vins blancs puissent être obtenus ouvre d'intéressantes perspectives à des fins d'authentification et d'analyse chimique.

Chapitre 3 :

Etude en solutions modèles pour les vins rouges

I Les principaux polyphénols du vin rouge	98
II Les anthocyanes : la malvidine 3-O-glucoside	100
II.1 Calculs DFT	102
II.2 Spectres d'absorption UV-visible expérimentaux et calculés	103
II.2.1 Le cation flavylum A ⁺	103
II.2.2 Les bases carbinols AOH	105
II.2.3 Les bases quinoniques AO	107
II.2.4 Les chalcones C	109
II.2.5 Le spectre d'absorption UV-visible de la malvidine 3-O-glucoside au pH du vin	110
II.3 La fluorescence induite par laser de la malvidine 3-O-glucoside	112
II.4 La diffusion Raman	115
II.5 Conclusion:	118
III Les tanins	119
III.1 Les Tanins hydrolysables et les tanins condensés	119
III.2 Etude physico-chimique	120
III.2.1 L'absorption UV-visible	120
III.2.2 Fluorescence	121
III.2.3 La diffusion Raman	123
IV Conclusion	124

Chapitre 3 : Etude en solutions modèles pour les vins rouges

Nous avons étudié dans le chapitre précédent deux grandes familles de composés présents dans les vins blancs : les acides phénoliques et les sucres. Ces acides entrent également dans la composition de tous les vins et certains vins rouges présentent une quantité importante de sucres résiduels, comme par exemple les vins doux naturels. Ce sont des vins rouges dont la fermentation fut interrompue afin de limiter la transformation du sucre en alcool. Dans le chapitre 1, nous avons vu que les vins colorés se différencient des vins blancs par une macération du jus dans le marc d'une durée allant de quelques heures à plusieurs jours [4]. Durant cette période, le jus s'enrichit en composés phénoliques, appartenant à la famille des flavonoïdes, présents dans la pellicule et les pépins. A l'issue de cette période de maturation le vin rouge est éventuellement mis en contact avec du bois de chêne qui va enrichir le vin en tanins hydrolysables.

I Les principaux polyphénols du vin rouge

En plus des acides hydroxycinnamiques et hydroxybenzoïques, le vin rouge incorporera donc dans sa composition des flavonoïdes et des tanins hydrolysables.

La famille des flavonoïdes présente un squelette constitué de deux cycles benzéniques C₆ reliés par une chaîne à trois carbones C₃. Le pont C₃ entre les deux phényles forme généralement un cycle pyrane ou pyrone. Les structures moléculaires des différentes sous-familles de flavonoïdes sont représentées dans la Figure I-1. Les cycles C₆ sont symbolisés par les lettres A et B et l'hétérocycle C₃ par la lettre C [79]. La distinction entre les différentes sous-familles des flavonoïdes se fait à partir de la structure du cycle C qui peut inclure des fonctions cétones et/ou hydroxyles. Les flavonoïdes ne sont présents que dans les plantes, ils jouent un rôle essentiel dans leur biochimie, leur physiologie [80][81]. De plus ce sont des pigments très efficaces à l'origine de la grande diversité des couleurs rencontrées dans le monde végétal. Ils ont également une fonction catalytique aidant aux transferts des électrons au cours de la photosynthèse, jouant ainsi un rôle dans la respiration des plantes. Ils permettent indirectement de réguler la croissance des plantes et de les défendre contre des infections [82]. Les propriétés pharmacologiques des flavonoïdes sont importantes pour leurs vertus analgésiques, antiallergique, antibactériennes, anti-inflammatoires [83], anti-oxydantes [84], antivirales et même anti-tumorales [85][86].

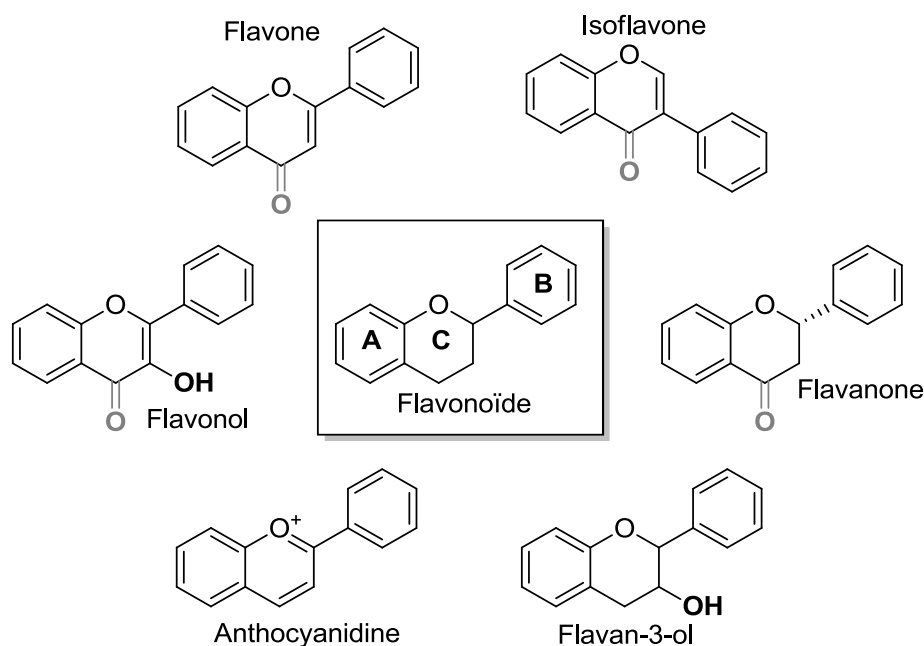


Figure I-1 : Les différents membres de la famille des flavonoïdes

Les tanins hydrolysables présents dans le bois de chêne sont principalement la vescalagine et la castalagine. Nous y retrouvons également en plus faible quantité la grandinine et la roburine [33]. Cette famille de molécules est représentée dans la Figure I-2.

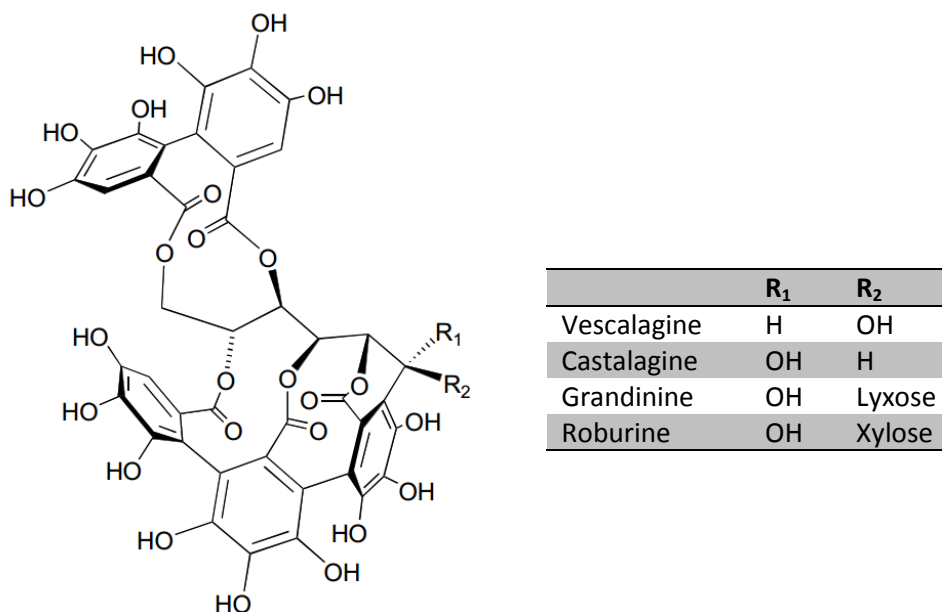
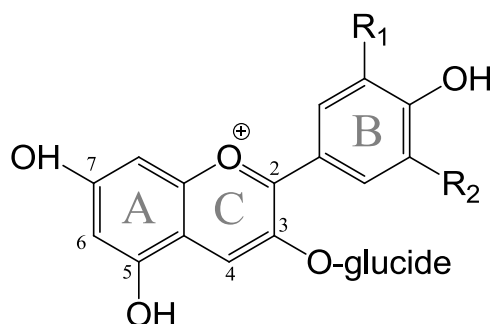


Figure I-2 : Structure moléculaire des ellagitanins

Dans ce travail, nous nous intéresserons aux anthocyanidines, aux tanins condensés dont le monomère est le flavan-3-ol (Figure I-1) et aux tanins hydrolysables. Ces molécules sont, avec les acides phénoliques, les polyphénols majoritairement rencontrés dans les baies de raisin et le bois de chêne. Nous nous intéresserons dans un premier temps à la famille des anthocyanes qui sont les principaux pigments responsables de la couleur des vins rouges. Dans un second temps, nous étudierons les réponses optiques des tanins condensés flavan-3-ol provenant des pépins de la baie de raisin et celles des tanins hydrolysables provenant du bois de chêne.

II Les anthocyanes : la malvidine 3-O-glucoside

Les anthocyanes sont des molécules d'anthocyanidines couplées à un glucide [87] en position 3 du cycle pyrane C et éventuellement un deuxième glucide en position 5 du cycle A (cf. Figure II-1). Il existe plusieurs anthocyanidines [88] qui se caractérisent par la nature des substituants en positions para et méta du cycle B. Ces molécules sont des pigments naturels couvrant une grande variété de couleurs. Les principales structures des anthocyanes comportent un glucose et sont listées dans la Figure II-1 avec leur couleur associée selon un pH acide. Leur concentration varie entre 350 et 1100 mg/L pour les vins rouges [33].



	nom	Couleur à pH acide
$R_1=OH, R_2=H$	Cyanidine	Rouge
$R_1=OH, R_2=OH$	Delphinidine	Rose
$R_1=OCH_3, R_2=H$	Paeonidine	Bleuté-violet
$R_1=OCH_3, R_2=OH$	Pétunidine	Violet
$R_1=OCH_3, R_2=OCH_3$	Malvidine	Rouge-violet
$R_1=H, R_2=H$	Pelargonidine	Orange/Rouge

Figure II-1 : Représentation de Fischer du cation flavylum permettant de définir les anthocyanides

La malvidine 3-O-glucoside est l'anthocyane majoritaire dans le vin rouge et sa concentration peut aller, selon le cépage, de 50 % à 80 % de la composition totale d'anthocyanes [33]. Il n'existe pas de forme unique pour cette molécule. La structure moléculaire et les propriétés colorantes de l'anthocyane vont dépendre du milieu physico-chimique dans lequel elle se trouve. Le pH est un facteur critique qui va gouverner la stabilité des différentes formes mise en jeu [87]. La malvidine 3-O-glucoside, comme les autres anthocyanes, existe en solution sous plusieurs formes en équilibre : le cation flavylum A⁺, les bases quinoniques AO, les bases carbinols AOH et les chalcones C. Pour cette étude, nous avons choisi de travailler avec les différentes structures représentées dans la Figure II-2. Nous avons également reporté dans cette figure la couleur associée aux pouvoirs colorants des formes en équilibre de la malvidine 3-O-glucoside.

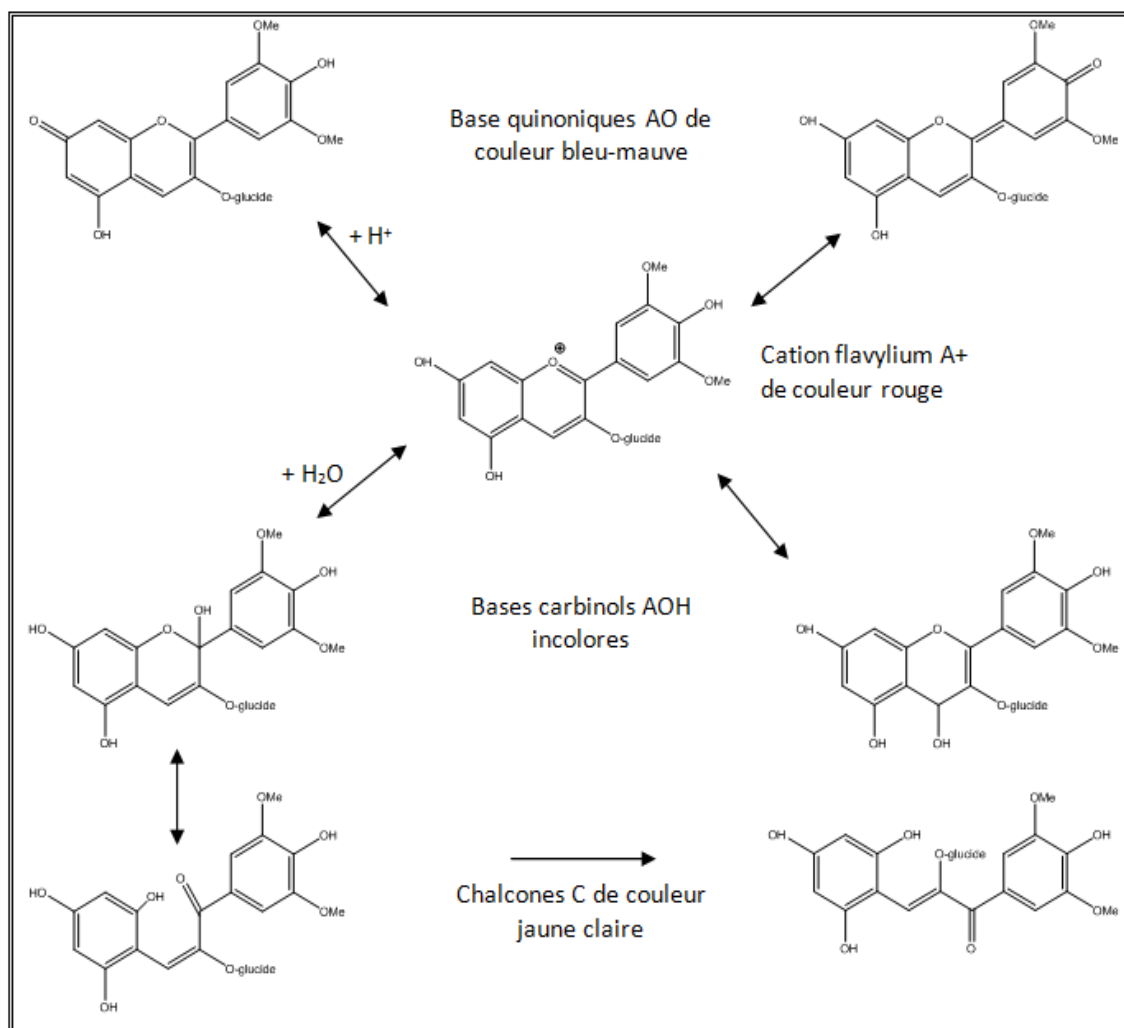


Figure II-2 : Structure et couleur des différentes formes en équilibre de la malvidine 3-O-glucoside en solution aqueuse.

La Figure II-3 représente l'évolution schématique des différentes formes de la malvidine 3-O-glucoside en fonction du pH [89]. Le cation flavylium A⁺ est la forme la plus stable dans une solution acide, alors que les bases carbinols AOH seront majoritaires dans un environnement neutre. Le vin ayant un pH compris généralement entre 3,0 et 4,0 [33], la forme dominante de cette anthocyane sera donc AOH qui est incolore. Selon la Figure II-3, la seconde forme généralement la plus présente est A⁺ qui donnera au vin sa couleur rouge.

Au pH moyen du vin rouge, la malvidine 3-O-glucoside est présente sous plusieurs formes en équilibre dont il convient de préciser les propriétés d'absorption dans l'UV-visible. Nous allons pour cela étudier les solutions modèles de la malvidine 3-O-glucoside à différentes valeurs du pH et nous nous appuierons sur des calculs de chimie quantique pour interpréter les résultats expérimentaux obtenus par absorption UV-visible. Cette étude préliminaire nous permettra alors d'analyser les spectres d'émission de fluorescence LIF et de diffusion Raman. Ces mesures expérimentales ont été réalisées sur des solutions modèles avec 20 mg/L de chlorure de malvidine 3-O-glucoside de Sigma-Aldrich, dont la pureté est supérieure à 90%, et le pH a été ajusté avec de la soude ou de l'acide chlorhydrique. Les solutions modèles ont été préparées avec un pH allant de 1,3 et 10,6.

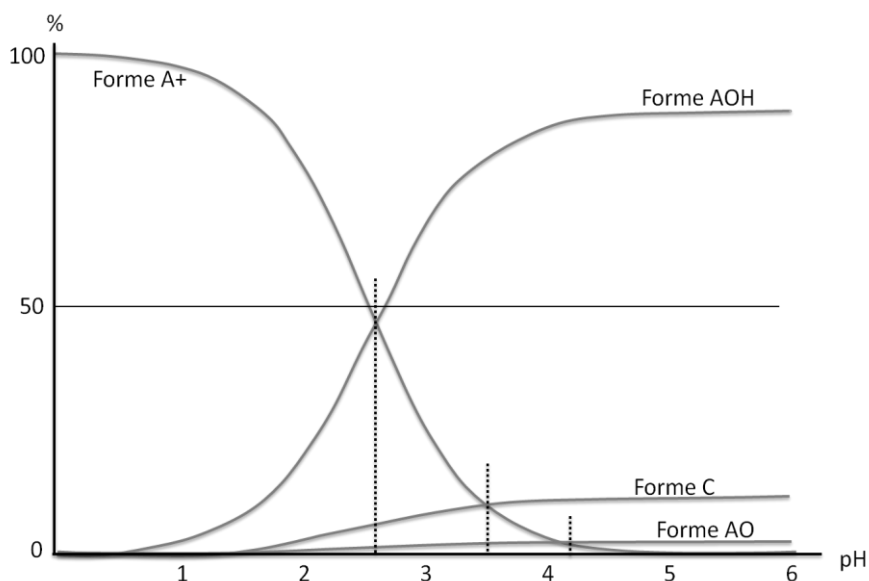


Figure II-3 : Evolution de la proportion des différentes formes de la malvidine 3-O-glucoside en fonction du pH.

II.1 Calculs DFT

La stratégie adoptée pour les calculs TD-DFT et DFT est similaire à celle adoptée pour les acides phénoliques (partie II.1 du chapitre 2). Pour chaque forme de la malvidine 3-O-glucoside il nous faut déterminer au préalable la conformation la plus stable. La malvidine 3-O-glucoside n'est pas une molécule plane, elle présente de nombreux degrés de liberté de rotation. Dans ce travail nous n'en avons considéré que cinq notés α , β , γ , δ et ε dans la Figure II-4. Les angles α et β représentent les rotations des groupements méthyles par rapport à la liaison C-O, γ détermine l'orientation du cycle B par rapport au plan formé par les cycles A et C, δ et ε permettent de déterminer la position et l'orientation du glucose par rapport au reste de la molécule. Pour le substituant glucoside, nous avons choisi de le modéliser dans sa conformation « chaise » qui est la plus stable [90]. Tous les calculs ont été réalisés en deux étapes, la première pour l'optimisation de la forme anthocyanidine seule puis la seconde pour optimiser la molécule complète après ajout du glucose. L'ajout de la partie glucoside ne modifie pas la structure pré-optimisée de la forme anthocyanidine.

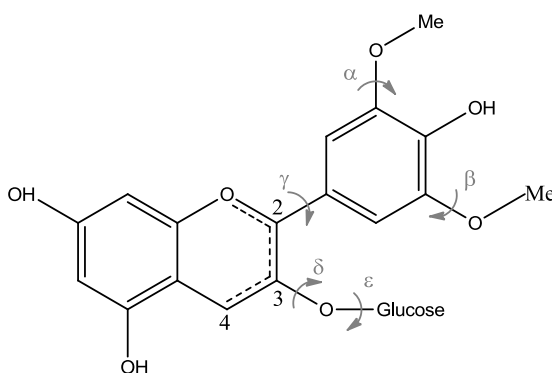


Figure II-4 : Les différents degrés de liberté de la molécule de malvidine 3-O-glucoside

Ces différents calculs ont été réalisés en utilisant la base de fonctions gaussiennes 6-311+g(d,p) et la fonctionnelle B3Lyp. Nous avons là encore pris en compte l'effet du solvant en utilisant un modèle de continuum polarisable car les mesures expérimentales sont réalisées pour les solutions hydro-alcooliques. Le même niveau de calcul est utilisé pour simuler les spectres d'absorption UV-visible et de diffusion Raman des différentes formes qui seront présentées dans les sections suivantes. De façon similaire, nous avons réalisé le calcul pour les différentes formes de la malvidine 3,5-diglucoside. Seuls les résultats de la forme flavylum sont discutés dans ce chapitre.

II.2 Spectres d'absorption UV-visible expérimentaux et calculés

Le spectre de la solution modèle de malvidine 3-O-glucoside au pH moyen de 3,5 du vin rouge résultera de la superposition des spectres de différentes formes en solution. Ainsi nous procéderons à une étude expérimentale d'une solution modèle de malvidine 3-O-glucoside sur un large domaine de pH. D'après la Figure II-3 et les résultats de la littérature disponibles [91]–[94], le spectre d'absorption UV-visible de la malvidine 3-O-glucoside dans une solution de pH très acide (1,3) est celui du cation flavylum A⁺. Nous pouvons également nous attendre à ce que les spectres aux pH les plus élevés (~10,6) soient représentatifs majoritairement des formes carbinols AOH. Nous allons donc dans un premier temps étudier l'absorption UV-visible des cations flavylum, dans un second temps celle des bases carbinols AOH, puis par la suite celle des chalcones C et bases quinoniques AO. Les spectres d'absorption des solutions modèles ont été réalisés environ une heure après leur préparation afin de laisser le temps aux différentes espèces de s'équilibrer. Précisons toutefois que si les solutions modèles acides (pH < 4-5) de la malvidine atteignent l'équilibre assez rapidement [19], il n'en est pas de même pour des solutions basiques à pH > 7. Les mesures sont réalisées selon un protocole identique à celui adopté pour les acides phénoliques avec une cellule en quartz d'un millimètre de chemin optique, un pas de 2 nm et un temps d'acquisition par pas de 0,4 s. Le domaine spectral est compris entre 250 nm et 700 nm car la malvidine 3-O-glucoside présente des absorptions dans le visible.

II.2.1 Le cation flavylum A⁺

Le cation flavylum A⁺ est connu pour être la forme de la malvidine 3-O-glucoside responsable de la couleur rouge du vin. Tous les atomes de cette forme sont dans le même plan x,y à l'exception des hydrogènes des groupements méthoxyles (Figure II-5). Une liaison hydrogène intramoléculaire est observée entre l'hydrogène du groupement hydroxyle et le carbone d'un des méthoxyles du cycle B. Le glucose est quant à lui hors du plan (X, Y) établi par le reste de la molécule. La transition électronique de plus faible énergie correspondant à une absorption calculée vers 466 nm implique à 90 % les orbitales HOMO et LUMO. Pour la malvidine 3-O-glucoside, il nous semble plus simple de raisonner sur la représentation de la différence des densités du premier état excité et de l'état fondamental, plutôt que sur les représentations des orbitales HOMO et LUMO prises séparément. Nous remarquons sur la Figure II-5 que la transition se traduit principalement par le transfert des électrons sur la partie aglycone de la molécule. Ainsi, le sucre joue un rôle négligeable dans la transition de plus faible énergie.

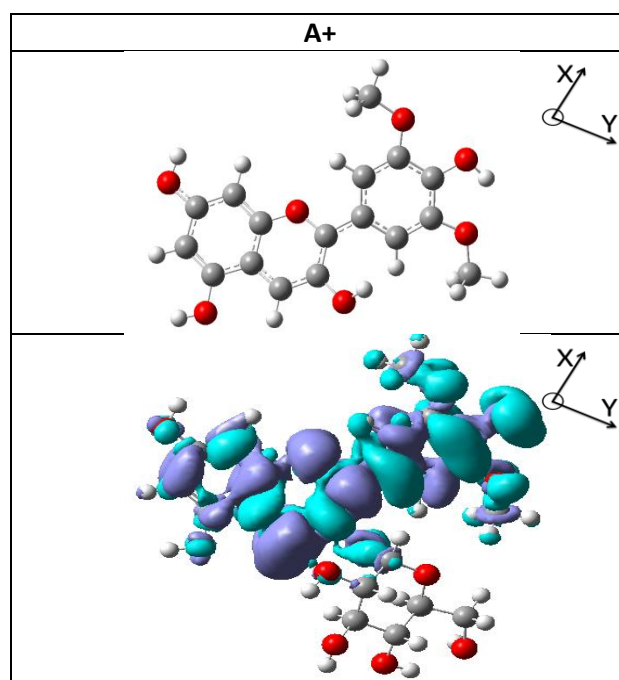


Figure II-5 : Représentation a) de la structure optimisée du cation flavylum de la malvidine, b) de la différence des densités du premier état excité et de l'état fondamental du cation flavylum de la malvidine 3-O-glucoside.

La solution modèle de malvidine 3-O-glucoside à pH très acide est supposée être composée principalement du cation flavylum A⁺ (cf. Figure II-3). Le spectre de la solution modèle à pH = 1,3 représenté sur la Figure II-6 présente trois bandes d'absorption dont les maxima sont vers 345, 429 et 523 nm. Nous constatons sur la Figure II-5 que l'accord expérience-théorie est très bon si nous appliquons un décalage systématique de 55 nm sur les transitions calculées. En effet, les trois bandes d'absorption expérimentales observées sont très bien prévues par le calcul. L'attribution des quatre premières transitions électroniques calculées ainsi que les maxima d'absorption expérimentaux sont reportés dans le Tableau II-1.

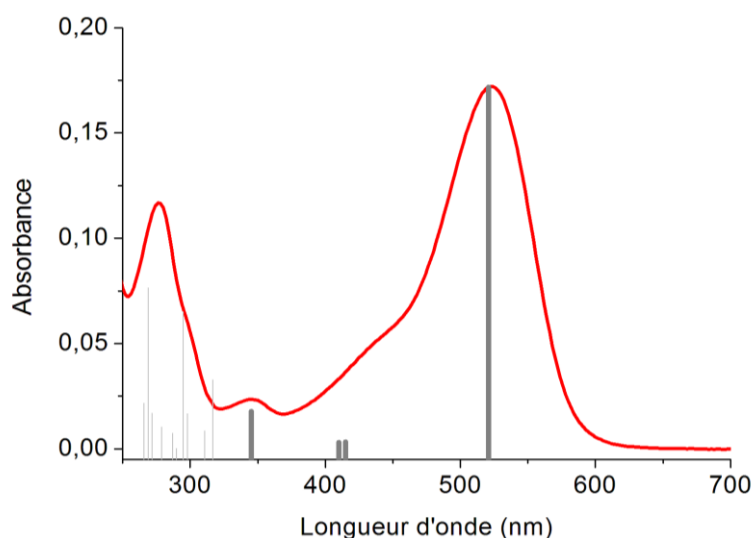


Figure II-6 : Spectre d'absorption UV-visible de la malvidine 3-O-glucoside à pH 1,3 ainsi que les résultats des calculs présentés avec un décalage de 55 nm vers les hautes longueurs d'onde

Tableau II-1 : Attribution des différentes transitions électroniques calculées pour le cation flavylum A⁺ de la malvidine, malvidine 3-O-glucoside et malvidine 3,5-diglucoside

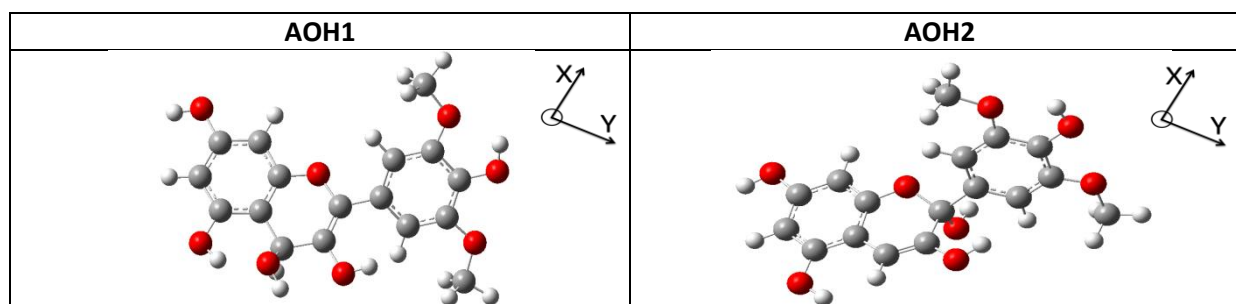
	malvidine			malvidine 3-O-glucoside					malvidine 3,5-diglucoside		
attribution	%	$\lambda_{\text{calculé}}$ (nm)	$\lambda_{\text{corrigé}}$ (nm)	%	$\lambda_{\text{calculé}}$ (nm) thèse [95]	$\lambda_{\text{calculé}}$ (nm) [95]	$\lambda_{\text{corrigé}}$ (nm)	λ_{exp} (nm) thèse [95]	%	$\lambda_{\text{calculé}}$ (nm)	$\lambda_{\text{corrigé}}$ (nm)
H \rightarrow L	94	472	527	90	466	497	521	523 527	94	478	533
H-1 \rightarrow L	92	364	419	97	363	462	418	429 440	88	362	417
H-2 \rightarrow L	93	336	391	80	355	424	410	429 440	87	343	398
H-3 \rightarrow L	93	290	345	79	290		345	345	57	289	344
H-4 \rightarrow L						336		348	21		

Symboles : % de l'attribution, $\lambda_{\text{calculé}}$ longueur d'onde calculée, $\lambda_{\text{corrigé}}$ longueur d'onde calculée corrigée

Dans le Tableau II-1 sont également reportées les valeurs calculées pour les quatre premières transitions électroniques de la molécule aglycone et de la malvidine 3,5-diglucoside. Nous constatons que les valeurs reportées sont très proches (variation de position maximale de 10 nm) pour chacune des transitions électroniques de ces molécules sur la forme flavylum. Nous avons également reporté dans ce tableau les résultats des calculs obtenus par L. Rustioni et al. [95] sur la malvidine 3-O-glucoside en utilisant la fonctionnelle B3P86. L'accord théorique/expérience est légèrement meilleur avec cette fonctionnelle. Ainsi, nous pouvons comparer les résultats obtenus dans la littérature sur la malvidine 3,5-diglucoside à nos résultats expérimentaux de la malvidine 3-O-glucoside.

II.2.2 Les bases carbinols AOH

La Figure II-7 résume les résultats des calculs de chimie quantique pour les bases carbinols. Ces molécules présentent un groupement hydroxyle sur le cycle C en position 4 pour la forme AOH1 et en position 2 pour la forme AOH2. Comme pour les bases quinoniques ou le cation flavylum, tous les atomes des formes AOH1 et AOH2 sont situés dans le même plan (X,Y) à l'exception des atomes d'hydrogène des groupements méthoxyles du cycle B et hydroxyles du cycle C. A nouveau une liaison hydrogène intramoléculaire est observée entre le groupement hydroxyle et un des méthoxyles du cycle B. Le glucose est quant à lui hors du plan (X,Y) établi par le reste de la molécule. Son orientation est similaire à celle calculée pour le cation A⁺. L'ajout du glucose à la malvidine modifie considérablement la conformation de la partie aglycone de la molécule. En effet, l'absence de double liaison entre les cycles B et C induit un degré de liberté supplémentaire qui permet de minimiser l'effet de l'encombrement stérique du glucose. Ainsi, la partie aglycone de la molécule n'est plus plane et le glucose est complètement hors du plan (X,Y) défini par les cycles A et C.



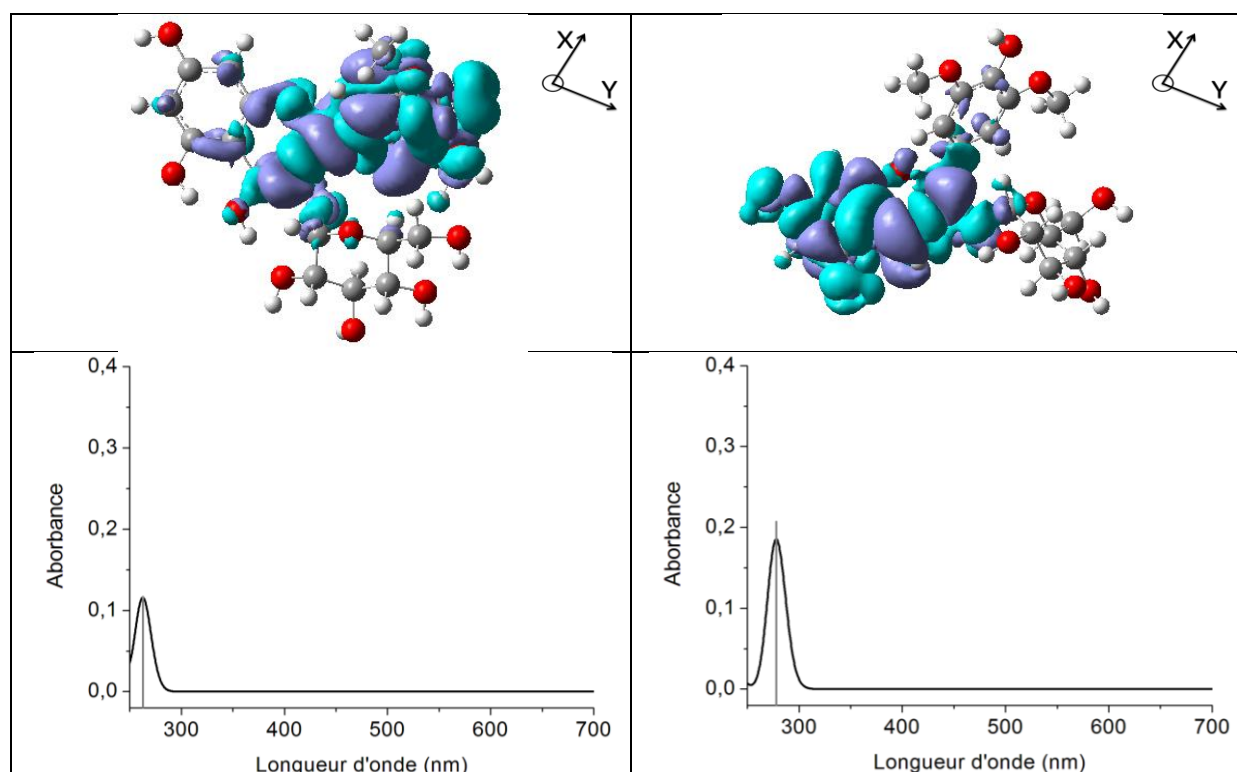


Figure II-7 : Représentation a) des structures optimisées de deux formes AOH1 et AOH2 de la malvidine, b) de la différence des densités du premier état excité et de l'état fondamental des formes AOH1 et AOH2 de la malvidine 3-O-glucoside, c) des spectres calculés et d) attribution des bandes calculée

Le transfert d'électrons pour la transition de plus faible énergie HOMO-LUMO est localisé sur une zone spécifique de la partie aglycone. Ainsi pour la forme AOH1, cette transition électronique (90 % HOMO – LUMO) met en jeu des transferts d'électrons au niveau des cycles B et C alors que pour la forme AOH2, le transfert d'électrons (91 % HOMO – LUMO) est localisé au niveau des cycles A et C. Nous remarquons sur la Figure II-7 que les spectres d'absorption UV-visible obtenus par calcul présentent des bandes d'absorption qui sont toutes à des longueurs d'onde inférieures à 300 nm. Nous retrouvons bien l'aspect incolore attendu pour ces deux formes AOH de la malvidine 3-O-glucoside en solution.

Le spectre expérimental de la solution modèle de malvidine 3-O-glucoside à pH 7,5 est reporté Figure II-8. Il présente un maximum d'absorption vers 272 nm que nous pourrions attribuer à la transition HOMO-LUMO d'une des formes (ou les deux) AOH de la malvidine-3-O-glucoside. Nous observons cependant un spectre large et peu intense de la solution entre 350 et 650 nm qui ne peut être attribué aux espèces AOH. Au pH de 7,5, il est donc plausible que des formes A⁺ soient encore présentes en solution et que les formes quinones AO ou chalcones C contribuent également à l'absorption de la solution dans le visible. Le spectre de la solution enregistré à un pH encore plus élevé (Figure II-8) de 10,6 présente deux bandes larges dont les maxima sont environ à 375 et à 610 nm. Manifestement, ces absorptions ne peuvent être attribuées aux formes A⁺ ou AOH de la malvidine-3-O-glucoside. Nous allons donc maintenant présenter les résultats des calculs pour les formes AO et C.

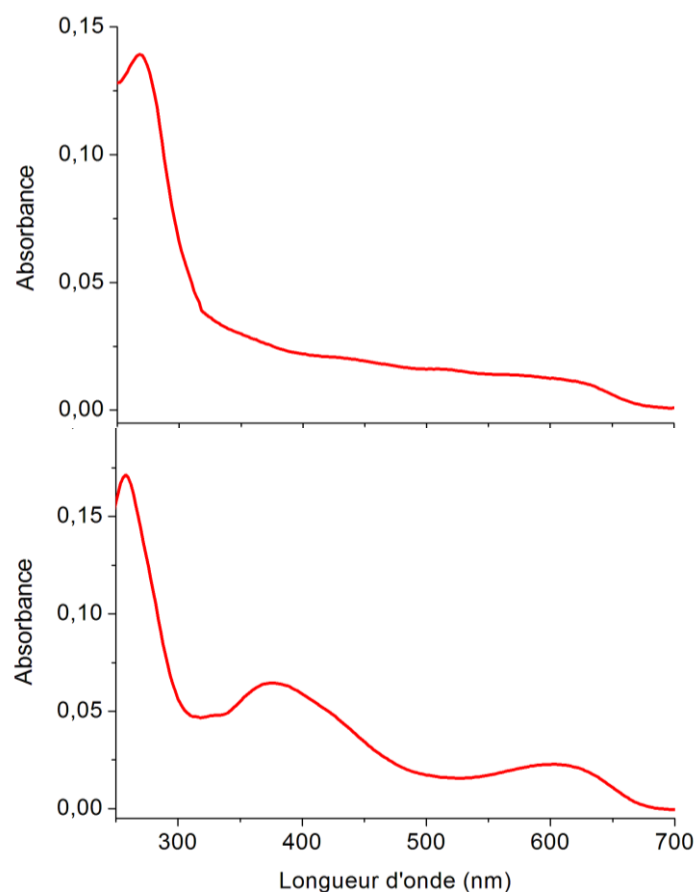


Figure II-8 : Spectre d'absorption UV-visible de la malvidine 3-O-glucoside à pH 7,5 (en haut) et 10,6 (en bas)

II.2.3 Les bases quinoniques AO

Les deux bases quinoniques de la malvidine (Figure II-9) présentent un groupement cétone, soit sur le cycle A pour la forme AO1, soit sur le cycle B pour la forme AO2. Ces deux formes moléculaires sont pratiquement planes, tous les atomes de carbone et d'oxygène des cycles A, B et C sont contenus dans le plan (X,Y). Seuls les atomes d'hydrogène des groupements méthoxyles ne sont pas situés dans ce plan. Nous remarquons également que la forme AO1 présente sur le cycle B une liaison hydrogène intramoléculaire entre le groupement hydroxyle et le groupement méthoxyle. Pour la forme optimisée de la malvidine-3-O-glucoside, le sucre ne se situe pas dans le plan (X,Y) et son orientation par rapport à ce plan varie selon la forme AO1 ou AO2 considérée.

Les spectres théoriques sont présentés sur la Figure II-9. Pour les deux formes AO1 et AO2, le maximum d'absorption théorique se situe entre 400 et 600 nm. Ces transitions électroniques mettent en jeu les excitations HOMO - LUMO à 94 % pour la forme AO1 et à 98 % pour AO2. Ainsi, la présence du glucose ne joue pas de rôle particulier dans cette transition électronique. L'origine des autres bandes calculées est détaillée dans le Tableau II-2. Nous constatons aussi que pour les deux bases quinoniques les transferts de charges sont très différents, les électrons se déplaçant du cycle B vers les cycles A et C pour AO1 et du cycle A vers les cycles B et C pour AO2. Ainsi la transition électronique HOMO-LUMO se situe vers 487 nm pour la forme AO1 et vers 518 nm pour la forme AO2. En supposant, à l'instar de la comparaison théorie/expérience réalisée ci-dessus sur le cation A⁺, que les absorptions calculées sont sous-estimées d'environ 55 nm par rapport à l'expérience, nous nous attendrions alors à observer ces maxima vers 542 et 573 nm. Le spectre d'absorption

observé vers 540 - 650 nm pour la solution modèle de la malvidine 3-O-glucoside à pH basique pourrait donc être attribué aux formes quinoniques AO1 et AO2.

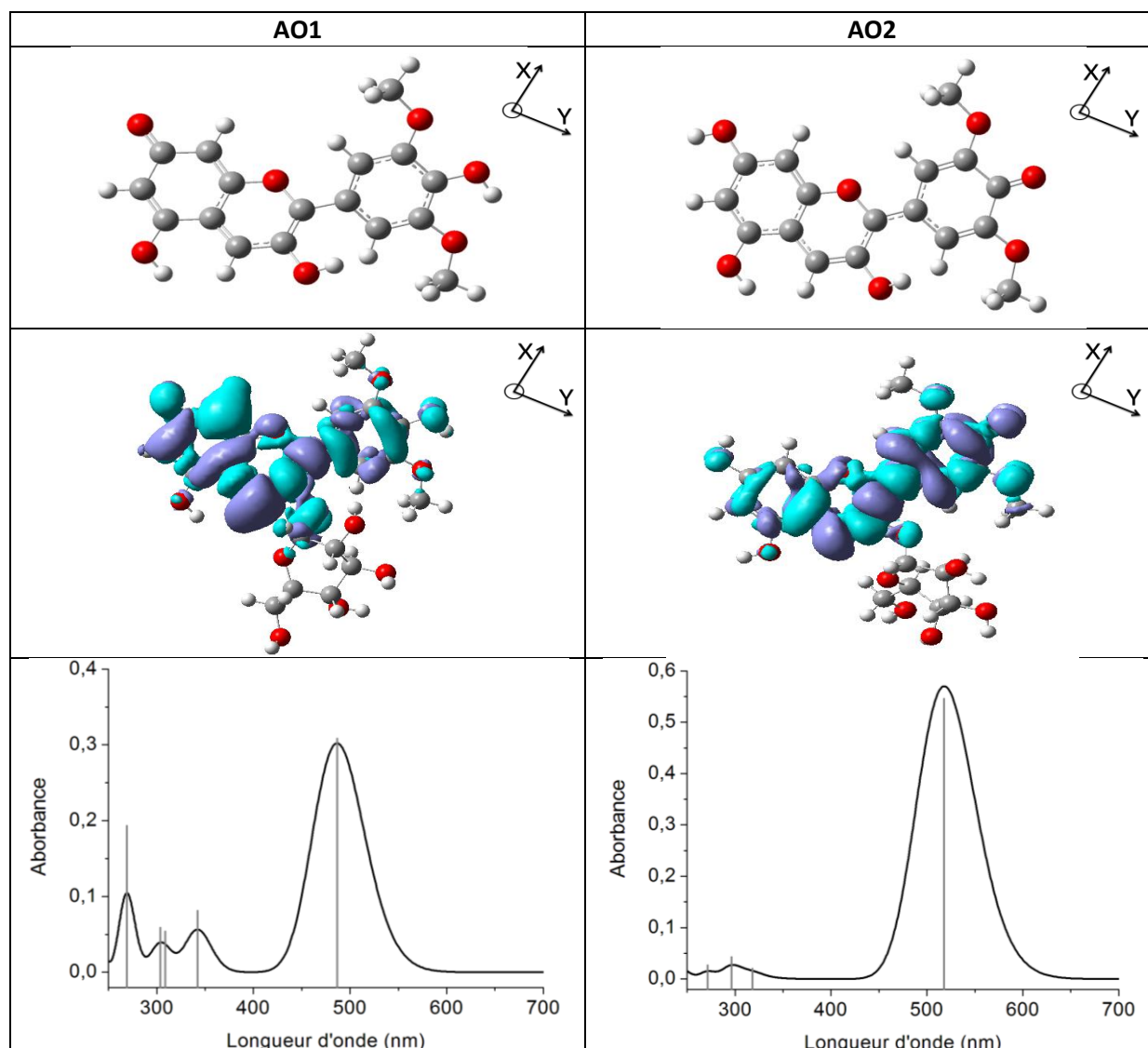


Figure II-9 : Représentation (a) des structures optimisées des deux formes AO de la malvidine, (b) de la différence des densités du premier état excité et de l'état fondamental de la malvidine 3-O-glucoside et (c) spectres d'absorption calculés.

Tableau II-2 : Attribution des différentes transitions électroniques calculées pour les formes AO

AO1			AO2		
λ_{abs} (nm)	Force d'oscillateur	attribution	λ_{abs} (nm)	Force d'oscillateur	attribution
486.53	0.77	84% H \rightarrow L	517.95	1.3646	98% H \rightarrow L
342.3	0.2026	54% H-1 \rightarrow L 34% H-3 \rightarrow L	318.14	0.0494	72% H-1 \rightarrow L
308.71	0.0135	84% H-2 \rightarrow L	296.34	0.1068	87 % H \rightarrow L+1
303.67	0.1472	46% H-3 \rightarrow L 32% H-1 \rightarrow L	271.38	0.067	64% H-3 \rightarrow L
268.99	0.4822	87% H \rightarrow L+1			

II.2.4 Les chalcones C

Les formes chalcones de la malvidine 3-O-glucoside se différencient des autres par l'ouverture du cycle B. Elles se caractérisent par une couleur jaune clair en solution. Les structures optimisées des chalcones représentées Figure II-10 sont celles des formes ouvertes de la malvidine. Nous retrouvons la liaison hydrogène entre les groupements hydroxyle et méthoxyle du cycle B. Le fait que les molécules soient ouvertes entraîne une plus grande flexibilité de ces molécules. Nous constatons que la forme optimisée C2 est plane (seul les hydrogènes des groupements méthoxyles sont hors du plan) alors que la forme C1 est légèrement déformée, les atomes des deux cycles A et B de cette forme ne sont pas situés dans le même plan. L'addition du glucose sur ces anthocyanidines ne modifie pas leur structure. Le glucose est quant à lui complètement hors du plan.

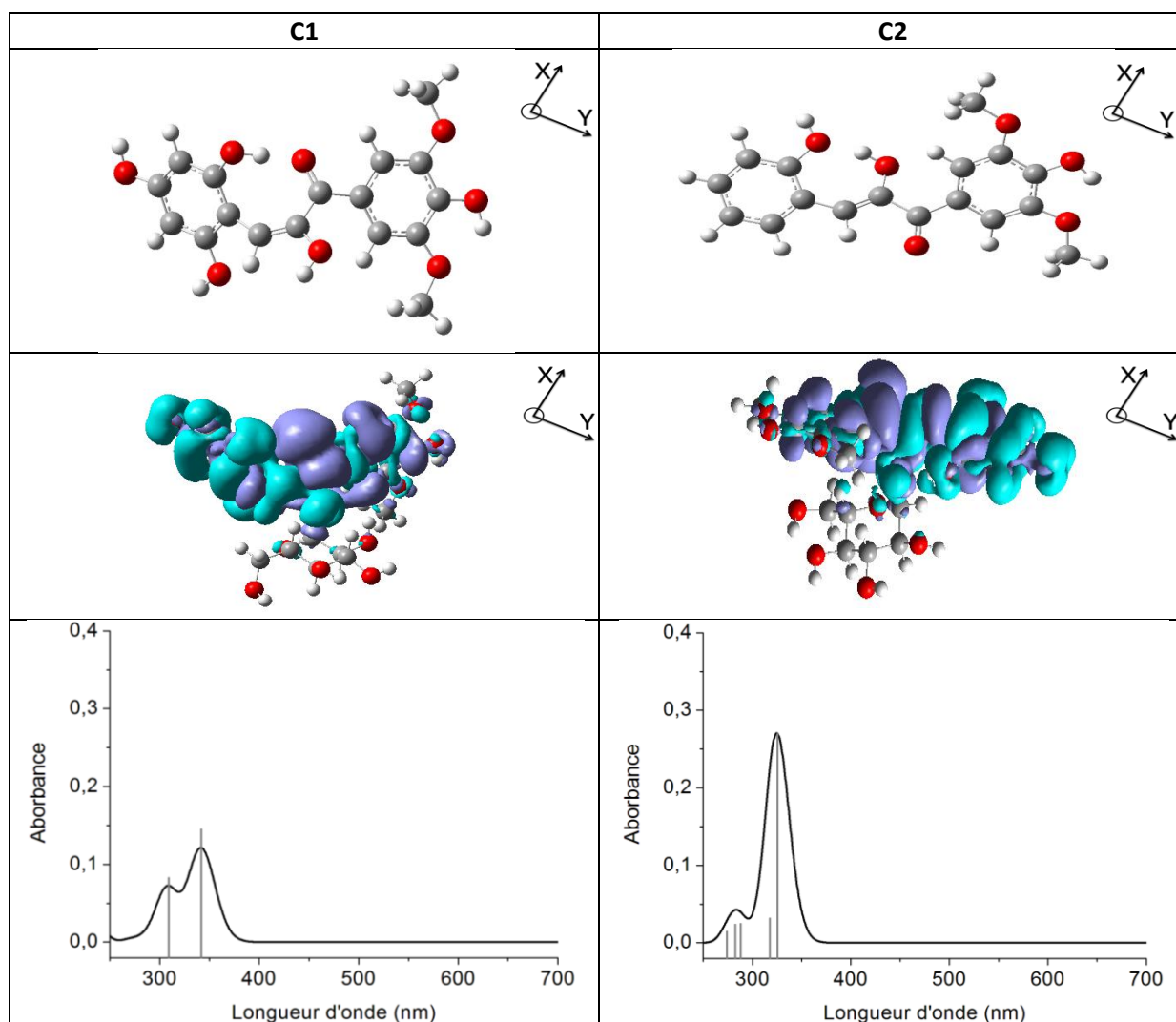


Figure II-10 : Représentation (a) des structures optimisées des deux formes C de la malvidine, (b) de la différence des densités du premier état excité et de l'état fondamental de la malvidine 3-O-glucoside sous formes chalcones et (c) spectres d'absorption calculés.

Les calculs TD-DFT montrent que la transition électronique de plus basse énergie est due à plus de 80 % à la transition HOMO \rightarrow LUMO. Les orbitales π mises en jeu se situent essentiellement sur la partie aglycone, le glucose présente une contribution négligeable. Les spectres théoriques d'absorption UV-visible obtenus par calcul sont reportés Figure II-10. La forme C1 présente un

maximum d'absorption à 88 % pour la transition HOMO - LUMO vers 342 nm et une absorption de plus faible intensité vers 309 nm à 74 % pour la transition HOMO-1 - LUMO.

Pour la forme C2, les transitions calculées sont détaillées dans le Tableau II-3. Nous retrouvons deux zones d'absorption vers 283 et 325 nm. En appliquant le facteur de correction de 55 nm déduit de l'analyse du spectre de la forme A+, le spectre d'absorption des chalcones C1 et C2 présentera plusieurs raies entre 338 et 380 nm. L'absorption observée entre 300 et 450 nm pour la solution modèle de la malvidine 3-O-glucoside à pH basique pourrait donc être attribuée aux formes chalcones C1 et C2.

Tableau II-3 : Attribution des différentes transitions électroniques calculées pour la forme C2

λ_{abs} (nm)	Force d'oscillateur	origine
325,34	0,9433	80% H \rightarrow L
317,69	0,0862	60% H-4 \rightarrow L 13% H-2 \rightarrow L
287,86	0,0862	68% H-2 \rightarrow L 16% H-4 \rightarrow L
282,42	0,0814	75% H-3 \rightarrow L
274,04	0,0515	68 % H-2 \rightarrow L
229,83	0,1508	62% H \rightarrow L+1

II.2.5 Le spectre d'absorption UV-visible de la malvidine 3-O-glucoside au pH du vin

Nous avons résumé les principales conclusions issues de l'analyse des spectres théoriques des différentes formes de la malvidine 3-O-glucoside dans le Tableau II-4. Dans ce même tableau, nous avons également reporté les valeurs des maxima d'absorption attribués à ces formes selon la littérature [92] [94]-[96].

Tableau II-4 : Résumé des résultats des calculs pour les différentes formes de la malvidine 3-O-glucoside, ainsi que les valeurs de la littérature

Forme	Longueur d'onde calculée (nm)	Longueur d'onde calculée avec décalage de 55 (nm)	Longueur d'onde observée (nm)	Littérature
A+	290	345 (III)	345	517 [96], 527 [95]
	355, 360	410, 415 (II)	416	
	466	521 (I)	522	
AOH1	262	317	275	275 [92], 270-280 [94]
AOH2	278	333		
AO1	342	397	Vers 450 et entre 500 et 600	440, 540, 570 [92]
	486	541		
AO2	518	573		
C1	309, 342	364, 397	Entre 300 et 400	330 [92], 340-350 [94]
C2	325	380		

Ainsi, il nous est possible, à l'aide du Tableau II-4 et des spectres d'absorption UV-visible de la malvidine 3-O-glucoside, d'établir des corrélations entre les variations d'absorption observées et

l'origine de ces bandes. Dans cette étude, nous nous intéressons à un domaine de pH plus restreint qui englobe le domaine de pH du vin.

Comme nous pouvons le constater sur la Figure II-11, le spectre de la solution modèle de malvidine 3-O-glucoside évolue fortement dans le domaine du pH du vin. En effet, la diminution de l'intensité des bandes vers 345, 450 et 520 nm symbolisées par des chiffres romains est attribuable à la diminution de la concentration des ions A⁺ dans la solution. Vers 350 nm, l'absorption de la solution varie peu en raison de la diminution de la concentration de la forme flavylum et de l'augmentation de celles des formes chalcones. Dans la Figure II-11-b, nous avons soustrait des spectres de la malvidine 3-O-glucoside celui obtenu à un pH de 1,3 représentatif de la forme flavylum dont l'intensité a été ajustée par rapport au maximum d'absorption vers 520 nm.

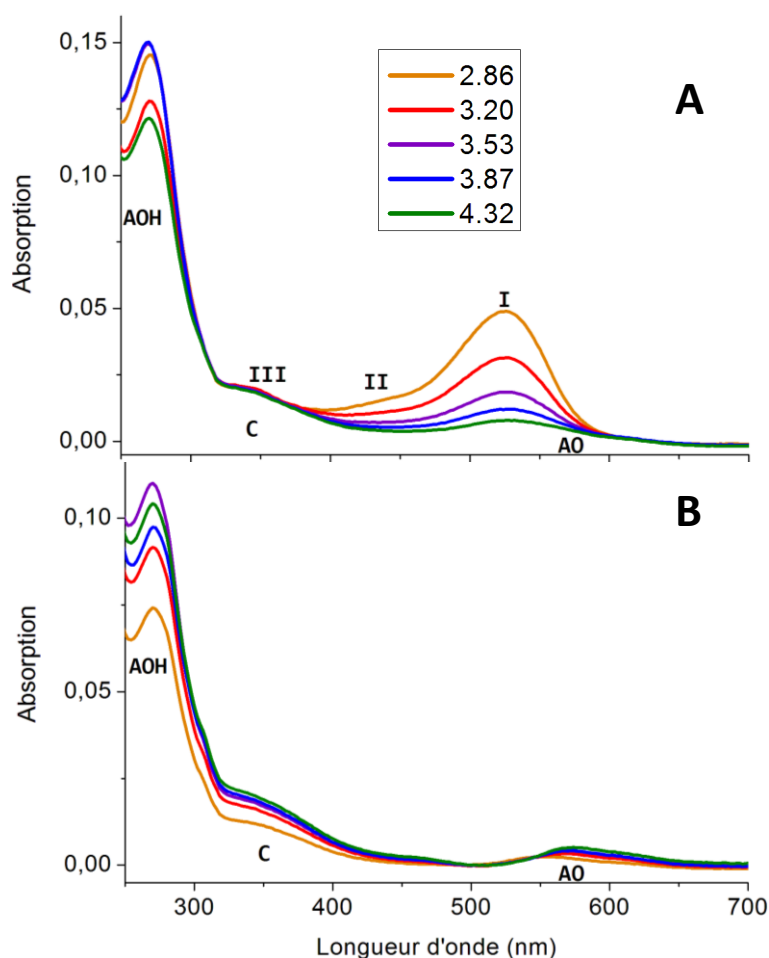


Figure II-11 : Spectres d'absorption UV-visible de la solution de malvidine 3-O-glucoside pour des pH allant de 2,8 (orange) à 4,3 (vert) avec un chemin optique de 1 mm, avec les attributions des bandes A⁺ (I, II et III), sont également reportées AOH, AO et C. (A) Spectres bruts et (B) spectres corrigés après soustraction du spectre au pH de 1,3 dont l'intensité a été ajustée par rapport au maximum d'absorption vers 520 nm.

En ce qui concerne l'intensité de la bande d'absorption vers 290 nm que nous avons attribuée majoritairement aux formes AO, elle comprend également les contributions de toutes les autres formes. Son évolution en fonction du pH n'obéit donc pas à une loi simple.

II.3 La fluorescence induite par laser de la malvidine 3-O-glucoside

Nous avons vu dans la section II précédente qu'au pH acide du vin rouge, ce sont essentiellement les formes A⁺, AO et C de la malvidine 3-O-glucoside qui sont susceptibles d'absorber le rayonnement entre 300 et 600 nm. Il en résulte que seules ces formes sont susceptibles d'être responsables de la fluorescence pour des longueurs d'onde supérieures à 325 nm. Quelques travaux traitant de la fluorescence des anthocyanes (dans différents contextes) sont disponibles dans la littérature [97]–[102]. Le plus récent [97], publié en 2013, traite de l'exploitation de la spectroscopie d'émission de fluorescence pour suivre l'évolution des dérivés d'anthocyanes au cours du vieillissement des vins rouges. Nous ferons donc par la suite bien entendu référence à ce travail qui traite également de la malvidine-3-O-glucoside comme système modèle.

Selon les résultats reportés dans le Tableau II-4, les formes chalcones de la malvidine 3-O-glucoside au pH de 3,5 du vin sont majoritairement susceptibles d'absorber le rayonnement entre 300 et 350 nm. Dans la Figure II-12 sont reportés les spectres d'émission LIF (non corrigés de la fonction d'appareil) obtenus pour une excitation à 325 nm pour quelques valeurs du pH de la solution modèle.

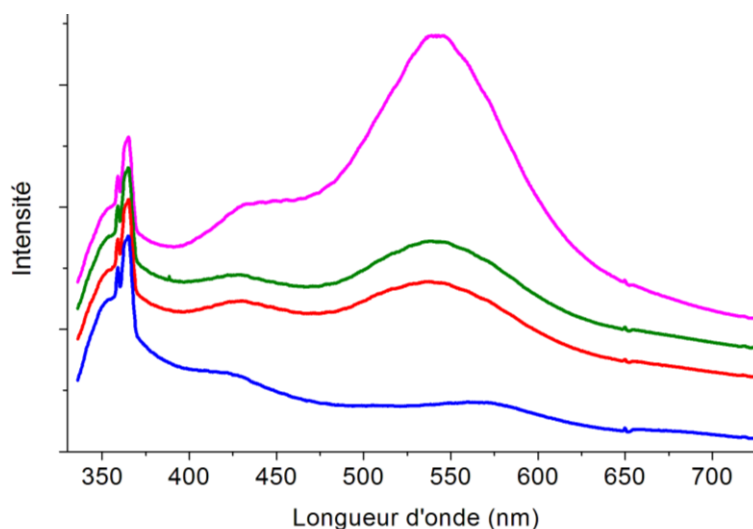


Figure II-12 : Spectres LIF pour une excitation de 325 nm des solutions modèles de malvidine 3-O-glucoside à pH 1,3 (bleu), 3,5 (rouge), 4,3 (vert) et 7,5 (violet). Les intensités des spectres ont été normalisées par rapport à celle de la diffusion Raman vers 375 nm.

Nous pouvons remarquer qu'avec l'augmentation du pH de la solution modèle, l'intensité du spectre d'émission de fluorescence augmente avec 2 maxima vers 430 et 540 nm, alors que l'intensité d'absorption n'évolue pas. Avec les calculs de la forme flavylum (partie II.2.1), nous avons mis en évidence que les spectres obtenus pour les malvidine mono ou di-glucoside étaient comparables. Selon les travaux de la littérature [99][102], le spectre d'émission (longueur d'onde d'excitation $\lambda_{\text{exc}} = 330$ ou 337 nm) de la malvidine 3,5-diglucoside en solution aqueuse à pH = 2,0 ou 3,3 présente deux maxima à 435 et 495 nm. Le spectre de fluorescence ($\lambda_{\text{exc}} = 330$ nm) de cette même molécule en solution binaire eau-méthanol à pH = 4,2 présente également deux maxima à 420 et 492 nm [98]. L'émission observée vers 495 nm serait attribuable [102] à la forme ionisée chalcone C1⁻ et celle vers 435 nm aux deux formes C1 et C2 de la malvidine 3,5-diglucoside. Nous pouvons remarquer sur la Figure II-12 que l'intensité relative de l'émission de fluorescence observée vers

540 nm par rapport à celle vers 430 nm augmente lorsque la valeur du pH de la solution augmente, ce qui est également en accord avec les résultats de la littérature [99][102]. Nous avons par ailleurs montré que le substituant glucoside avait peu d'impact sur les propriétés électroniques de la malvidine. Nous proposons donc, par analogie avec les travaux antérieurs, d'attribuer les deux maxima observés vers 430 et 540 nm ($\lambda_{\text{exc}} = 325 \text{ nm}$) sur les spectres LIF de la malvidine 3-O-glucoside aux émissions de fluorescence des formes chalcones C1 et C2.

Le spectre d'absorption UV-visible de la solution modèle de malvidine 3-O-glucoside au pH du vin présente une absorption vers 523 nm caractéristique de la transition HOMO-LUMO du cation flavylum A⁺ et une autre située entre 400 et 600 nm attribuée aux bases quinoniques AO. Nous avons reporté dans la Figure II-13 les spectres d'émission LIF de la solution modèle à différentes valeurs du pH, pour une longueur d'onde d'excitation de 532 nm.

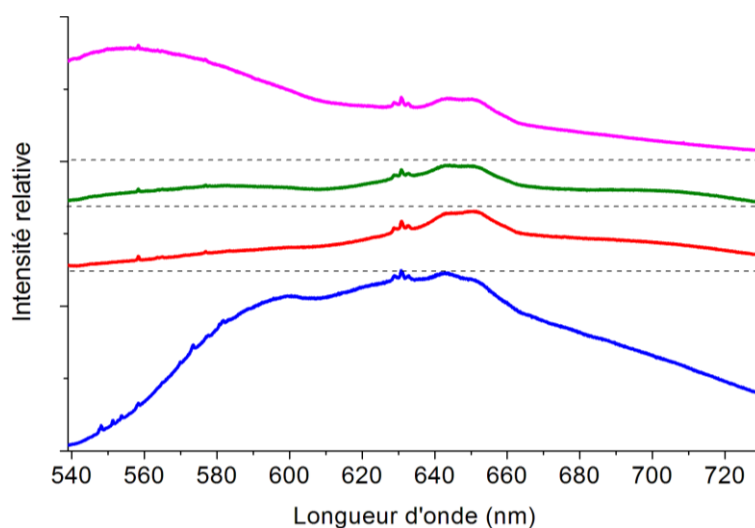


Figure II-13 : Spectres LIF pour une excitation de 532 nm des solutions modèles de malvidine 3-O-glucoside à pH 1,3 (bleu), 3,5 (rouge), 4,3 (vert) et 7,5 (violet). Les intensités des spectres ont été normalisées par rapport à celle de la diffusion Raman vers 630 nm.

Pour cette longueur d'onde d'excitation, nous nous attendons à observer les émissions de fluorescence des espèces A⁺ et AO. Pour un pH de 1,3, nous observons la fluorescence du cation flavylum A⁺ avec un maximum compris entre 600 et 650 nm. Nous remarquons également la présence de la diffusion Raman que nous n'analyserons que dans la section II.4. Dans la littérature [99][103], cette émission est observée vers 625 nm pour des longueurs d'onde d'excitation comprise entre 500 et 514,5 nm. Nous constatons sur la Figure II-13 que la fluorescence émise vers 625 nm diminue en intensité lorsque le pH augmente de 1,3 à 7,5 du fait de la diminution de la concentration en espèces A⁺. Cette diminution de la fluorescence s'accompagne d'une émission de fluorescence vers 550 nm avec l'augmentation du pH. A priori, seules les formes quinoniques AO sont susceptibles de fluorescer à cette longueur d'onde pour un pH légèrement basique. Dans la littérature, l'émission de fluorescence en dessous de 600 nm n'est pas analysée précisément pour la malvidine 3-O-glucoside. Ces variations d'intensité de fluorescence en fonction du pH pour la malvidine 3,5-diglucoside ont été observées par P. Figueiredo et al. [99] pour une excitation à 500 nm. Le seul travail de la littérature que nous avons trouvé dans lequel il est fait mention de la fluorescence d'une anthocyane vers 550 nm est celui de F. Pina et al. [104]. Dans ce travail, les différentes formes en équilibre de l'anthocyane synthétique 4',7-dihydroxyflavylum sont étudiées

par spectroscopies d'absorption UV-visible et de fluorescence en fonction du pH. Pour une solution de pH = 6, le spectre de fluorescence ($\lambda_{exc} = 500$ nm) de cette molécule présente deux maxima vers 550 et 610 nm attribués à la base quinonique AO et à la forme chalcone C. Ainsi, la littérature ne nous permet pas d'étayer nos attributions d'émission de fluorescence pour une excitation comprise entre 500 et 532 nm.

Dans le but d'affiner nos hypothèses d'attribution, nous avons enregistré les spectres LIF de la malvidine-3-O-glucoside pour une longueur d'onde d'excitation de 405 nm (Figure II-14).

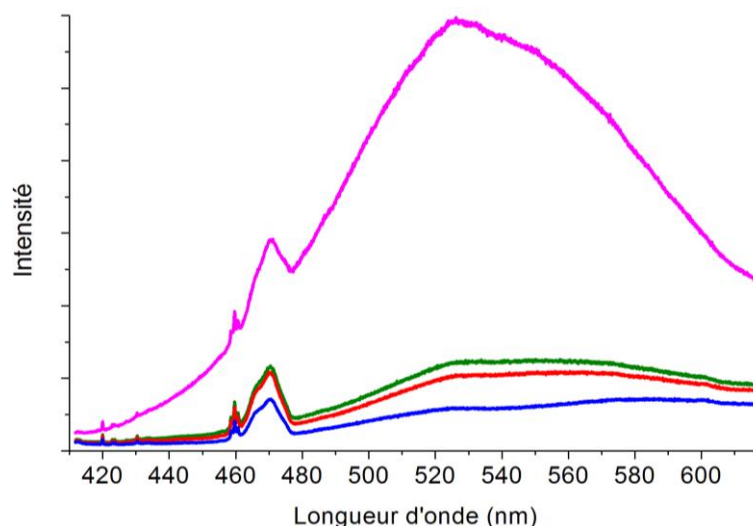


Figure II-14 : Spectres LIF pour une excitation de 405 nm des solutions modèles de malvidine 3-O-glucoside à pH 1,3 (bleu), 3,5 (rouge), 4,3 (vert) et 7,5 (violet). Les intensités des spectres ont été normalisées par rapport à celle de la diffusion Raman vers 460 nm.

Pour l'excitation de 405 nm, nous observons une émission de fluorescence avec deux maxima apparents vers 525 et 560 nm, mais les spectres ne sont pas corrigés de la fonction d'appareil. Nous remarquons tout de même l'amplification en intensité de la fluorescence de la solution modèle avec l'augmentation du pH de la solution modèle. Nous ne pouvons pas attribuer précisément, à ce stade de nos analyses, l'origine de cette émission de fluorescence autour de 550 nm obtenue pour des excitations de 325, 405 et 532 nm. En effet, pour attribuer plus précisément les fluorescences des formes chalcones et des bases quinoniques de la malvidine 3-O-glucoside, il serait nécessaire de mesurer des spectres d'excitation en étudiant la variation d'intensité de l'émission obtenue à 550 nm. Or, notre but n'est pas d'attribuer chaque forme de la malvidine 3-O-glucoside, mais de déterminer son spectre d'émission global pour une attribution dans un mélange plus complexe.

Au pH du vin, l'analyse qualitative que nous avons menée en nous appuyant sur des résultats de la littérature, nous a permis de proposer les attributions qui sont résumées dans le Tableau II-5.

Tableau II-5 : Longueurs d'onde d'émission tirées de la littérature pour les différentes formes de la malvidine 3,5-diglucoside et comparées à nos résultats LIF pour un pH est compris entre 3,3 et 3,5.

Forme	Résultats de la littérature	Nos résultats LIF
	Longueur d'onde d'émission (nm) / Longueur d'onde d'excitation (nm)	Longueur d'onde d'émission (nm) / Longueur d'onde d'excitation (nm)
AO1	660 / 500 [99]	650 – 700 / 532
AO2		550 / 405
A+	620 / 500 [99]	625 / 532
	638 / 500 [97]	
AOH	370 / 270 [99]	
C1	435 / 270-350 [99]	430 / 325
	435 / 337 [102]	
C ionisé	495 / 270-350 [99]	540 / 325
	495 / 337 [102]	550 / 405 ?

Il est intéressant de noter que l'émission de fluorescence de la malvidine-3-O-glucoside n'est pas très intense et que les résultats obtenus par spectroscopie LIF se comparent assez bien à ceux de la littérature concernant la malvidine 3,5-diglucoside. Cette fluorescence est suffisamment faible pour que dans tous les cas nous soyons capables de détecter les raies liées à la diffusion Raman. Il convient cependant de mentionner que les molécules d'anthocyanes sont connues pour interagir avec d'autres polyphénols du vin et se polymériser ou s'associer. Dans ce cas, il semblerait que l'émission de fluorescence des chromophores de la malvidine dans une structure polymérisée soit bien plus intense que l'émission du monomère [97].

II.4 La diffusion Raman

Nous avons vu que, quel que soit son pH, la solution modèle de malvidine 3-O-glucoside n'absorbait pas le rayonnement pour des longueurs d'onde supérieures à 700 nm. Dans la Figure II-15 sont reportés les spectres de la solution modèle de malvidine 3-O-glucoside et de la solution mère pour une excitation de 785 nm.

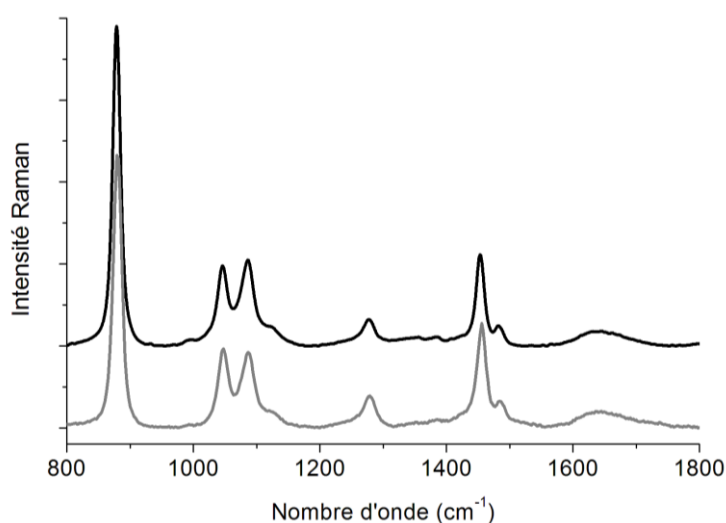


Figure II-15 : Spectres Raman de la solution modèle de Malvidine 3-O-glucoside de pH 3,5 et de la solution mère pour une excitation de 785 nm (en gris).

A cette longueur d'onde, nous nous affranchissons de la fluorescence mais nous pouvons constater que ces spectres sont pratiquement identiques. La concentration en malvidine 3-O-glucoside (20 mg/L) est donc trop faible pour que son spectre Raman « normal » soit observable facilement.

Le seul moyen d'obtenir un spectre Raman de la malvidine-3-O-glucoside est d'exalter une partie du signal par effet Raman de résonance. Lors de l'étude des spectres LIF, nous avons constaté qu'à aucune des longueurs d'onde de travail la fluorescence ne masquait complètement la diffusion Raman. Les longueurs d'onde d'excitation de 325 nm et 532 nm sont en outre particulièrement importantes. En effet, d'une part nous avons observé une diffusion RR dans le vin rouge vers 1600 cm^{-1} avec une excitation à 325 nm et d'autre part, le maximum d'absorption vers 520 nm attribué aux anthocyanes est en grande partie responsable de la couleur du vin rouge. Ainsi, dans la Figure II-16 sont reportés les spectres de la solution la plus acide (pH = 1,3) de la malvidine 3-O-glucoside à ces deux longueurs d'onde d'excitation.

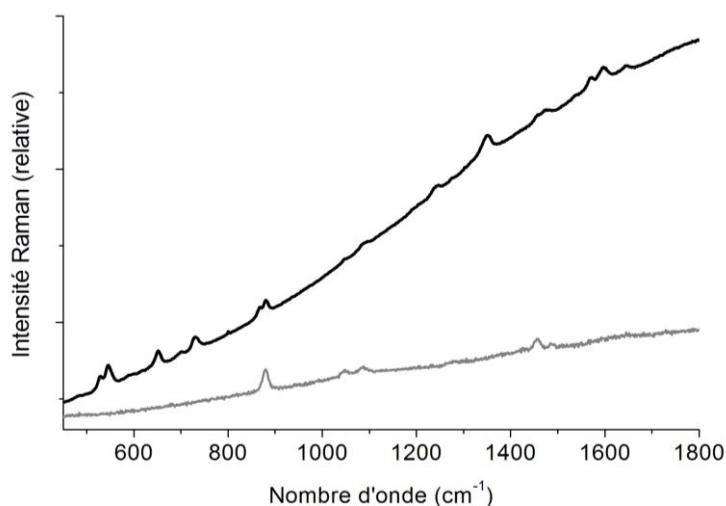


Figure II-16 : spectre Raman de la solution de Malvidine 3-O-glucoside à pH 1,3 pour des excitations de 325 nm (en gris) et de 532 nm (en noir)

L'examen de la Figure II-16 révèle que le spectre enregistré avec une excitation à 532 nm présente de nombreux pics supplémentaires par rapport à celui obtenu à 325 nm. D'autre part, le spectre de la solution modèle enregistré avec une excitation de 325 nm ne présente pas les raies de résonance vers 1600 cm^{-1} observées sur les vins rouges et ce spectre est pratiquement identique à celui de la solution mère, après soustraction du fond de fluorescence. Ainsi la résonance observée dans les vins blancs et rouges avec une excitation à 325 nm provient bien des acides phénoliques et plus précisément des acides hydroxycinnamiques. Le spectre à 532 nm est donc celui du cation flavylum puisque la malvidine est dans une solution fortement acide. L'intensité de ces raies Raman de résonance diminue lorsque le pH, augmente (Figure II-17). Ainsi pour un pH supérieur à 4, ces pics ne sont plus facilement détectés.

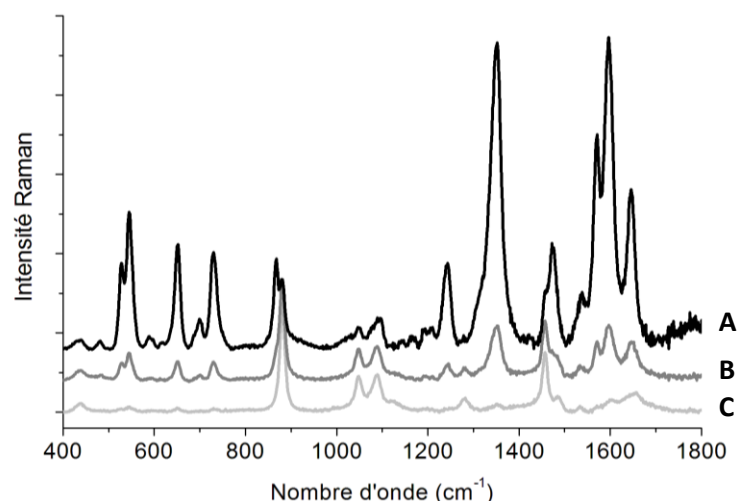


Figure II-17 : Spectres Raman de résonance à 514,5 nm de la solution modèle de malvidine-3-O-glucoside au pH de (A) 1,3, (B) 3,5 et (C) 4,4

Nous avons reporté dans la Figure II-18 les spectres Raman de résonance corrigés de la ligne de base pour deux longueurs d'onde d'excitation, 514,5 et 532 nm, proches du maximum d'absorption du cation flavylum vers 520 nm.

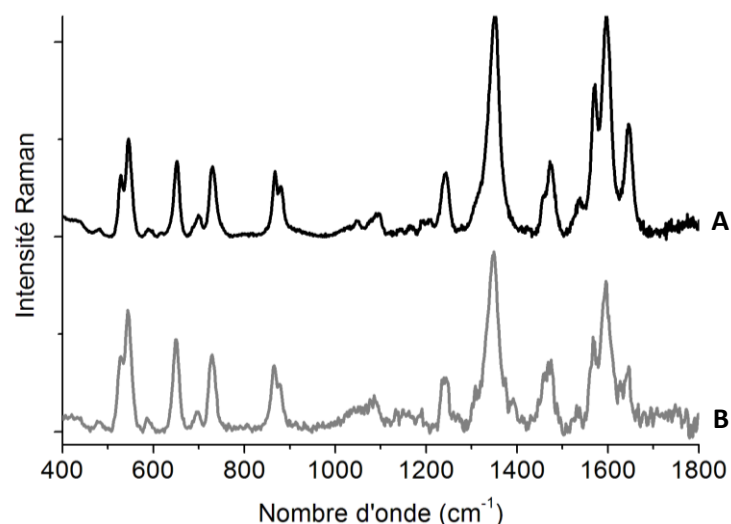


Figure II-18 : Spectres Raman de résonance (a) à 514,5 nm et (b) 532 nm de la solution modèle de malvidine-3-O-glucoside au pH = 1,3

Les spectres RR de la malvidine-3-O-glucoside ont été publiés dans deux articles de J.C. Merlin et al.. Dans l'article le plus ancien [103] de 1985, les spectres ont été enregistrés avec une longueur d'onde d'excitation de 488 nm et diffèrent de ceux reportés Figure II-18 dans la région 500 - 800 cm^{-1} . Dans le second article plus récent de ces auteurs [105] de 1993, les spectres RR ont été obtenus en fonction de la longueur d'onde d'excitation à 457,9, 482,5, 501,7, 530,9 et 568,2 nm. Les profils d'excitation obtenus pour les raies RR les plus intenses montrent que les intensités sont maximales au voisinage du maximum d'absorption de la malvidine 3-O-glucoside. Nos propres mesures sont donc en excellent accord avec les derniers résultats obtenus par ces auteurs. Nous avons reporté dans le Tableau II-6 l'attribution des raies RR que nous proposons, en nous appuyant sur les calculs vibrationnels DFT, ainsi que les nombres d'onde observés pour une excitation de 457,9 nm par J.C. Merlin et al. [105].

Tableau II-6 : Attribution des raies Raman de résonance (RR) de la solution modèle de Malvidine 3-O-glucoside observées dans les domaines 450-900 et 1300-1700 cm^{-1} à l'aide de la distribution d'énergie potentielle des calculs de la forme flavylum.

$\bar{\nu}$ calculé (cm^{-1})	$\bar{\nu}$ RR (cm^{-1})	$\bar{\nu}$ RR (cm^{-1}) [105]	Attribution
527	527	528	$\nu_B(\text{C-C})$ (30%) + $\delta_B(\text{C-O-C})$ (12%) + $\delta_B(\text{H-O-C})$ (10%)
537	545	545	$\tau_B(\text{H-O-C-C})$ (71%)
655	651	651	$\nu_{A-C}(\text{C-C})$ (11%) + $\delta_{A-C}(\text{C-C-H})$ (26%)
683	698	697	$\nu_{A-C}(\text{C-C})$ (12%) + $\delta_{A-C}(\text{C-C-H})$ (18%)
753	729	729	$\tau_{A-C}(\text{X-C-C-X})$ (67%) + $\tau_{A-C}(\text{C-C-O-H})$ (26%)
876	866	868	$\delta_{A-C}(\text{C-C-C, O-C-C et C-O-C})$ (36%) + $\delta_B(\text{C-C-C})$ (12%)
1017		1025	$\nu_{A-C}(\text{C-C})$ (49%) + $\delta_{A-C}(\text{C-C-H})$ (21%)
	1093	1095	
		1162	
1183		1192	$\delta_{A-C}(\text{C-O-H})$ (34%) + $\nu_{A-C}(\text{C-C})$ (18%)
1244	1240	1230	$\delta_{A-C}(\text{C-C-H})$ (33%) + $\delta_B(\text{H-O-C})$ (12%)
1370	1350	1350	$\nu_{B-C}(\text{C-C})$ (17%) + $\nu_B(\text{C-C})$ (14%) + $\nu_{A-C}(\text{C-C})$ (13%)
1416		1415	$\nu_B(\text{C-C})$ (38%) + $\delta_B(\text{C-O-H})$ (21%)
1489	1456		$\nu_{\text{méthyl}}$ (49%) + $\nu_{A-C}(\text{C-C})$ (10%)
1508	1473	1472	$\nu_{A-C}(\text{C-C})$ (24%) + $\delta_{A-C}(\text{C-C-H})$ (15%) + $\delta_{A-C}(\text{C-C-C, C-C-O})$ (31%)
1531	1535	1535	$\nu_{A-C}(\text{C-C})$ (24%) + $\delta_{A-C}(\text{C-C-H, C-C-C et C-C-O})$ (28%)
1607	1569	1568	$\nu_{A-C}(\text{C-C})$ (34%) + $\delta_{A-C}(\text{C-C-C, C-C-H})$ (31%)
1629	1596	1595	$\nu_B(\text{C-C})$ (48%) + $\delta_B(\text{C-C-C et C-C-H})$ (33%)
1677	1650	1645	$\nu_{A-C}(\text{C-C})$ (63%)

Nous remarquons que les pics exaltés sont dus à des vibrations et déformation des cycles de la forme aglycone de la molécule et que les vibrations et déformations du glucose sont négligeables.

II.5 Conclusion

A partir des résultats obtenus dans ces deux derniers chapitres, nous pouvons mieux comprendre l'origine des différents signaux optiques obtenus dans la Figure II-7 du chapitre 1. Le spectre d'absorption UV-visible du vin rouge est, au-delà de 300 nm, assez ressemblant à celui observé pour la solution modèle de malvidine 3-O-glucoside à un pH compris entre 3 et 4. L'absorption vers 520 nm est donc due aux formes flavylum et bases quinoniques de la malvidine 3-O-glucoside et l'absorption vers 310 nm a pour origine les bases carbinols AOH de la malvidine 3-O-glucoside et les acides hydroxycinnamiques.

Ces attributions sont confirmées par l'émission de fluorescence du vin rouge. Pour une excitation de 405 et 532 nm, nous retrouvons bien la fluorescence obtenue pour la solution modèle de malvidine 3-O-glucoside respectivement vers 520-560 et 620 nm. L'émission obtenue pour une excitation de 325 nm est plus complexe avec trois maxima. La bande à 422 nm est attribuable aux acides hydroxycinnamiques, mais les deux premières bandes vers 361 et 378 nm ne semblent pas dues aux acides, ni à la malvidine 3-O-glucoside. Ainsi, d'autres composés phénoliques fluorescents restent à être identifiés.

Dans le spectre de diffusion Raman, nous retrouvons pour une excitation de 325 nm le doublet d'exaltation dû aux acides hydroxycinnamiques. Or pour une excitation autour de 532 nm, nous n'observons pas la résonance due à la forme flavylum de la malvidine 3-O-glucoside. En effet, il semble que la fluorescence du vin soit nettement plus intense que celle observée pour la solution

modèle de malvidine 3-O-glucoside. Ceci peut traduire à nouveau la présence d'autres polyphénols. Cette émission de fluorescence intense observée dans les vins rouges pour une excitations autour de 520 nm peut aussi être due à la co-pigmentation [97], c'est-à-dire l'agrégation ou la complexation des anthocyanes avec d'autres molécules ou polyphénols.

III Les tanins

Les tanins sont les plus grosses molécules étudiées dans cette thèse avec des masses moléculaires allant de 600 à 3500 Da. Ce type de substance réagit avec les protéines et d'autres polymères végétaux pour former des molécules très stables. L'exemple le plus connu est la réaction des tanins avec les protéines de la salive donnant cette sensation d'astringence. C'est-à-dire une sensation d'assèchement de la bouche due à un resserrement des papilles gustatives.

Il existe plusieurs types de tanins qui dépendent directement de leur origine végétale et des molécules élémentaires qui les composent. Dans le vin rouge on trouvera des tanins hydrolysables et des tanins condensés. Notre objectif est ici d'une part d'évaluer l'émission de fluorescence et d'autre part de détecter d'éventuelles raies Raman caractéristiques de ces tanins du vin rouge.

III.1 Les tanins hydrolysables et les tanins condensés

Les tanins hydrolysables se solubilisent rapidement en solution hydro-alcoolique. Il en existe deux types : ceux à base d'acide gallique (les gallotanins) et ceux à base d'acide ellagique (les ellagitanins). Cette seconde famille de tanins ne provient pas du raisin, mais du bois de chêne. Elle se retrouve dans le vin soit par contact avec le bois d'un tonneau ou de copeaux, soit par de l'addition de tanins œnologiques [31]. Les tanins de bois de chênes sont décrits dans la Figure I-2.

Comme nous l'avons vu dans la partie I de ce chapitre, les tanins condensés sont des polymères plus ou moins complexes de flavon-3-ols que nous retrouvons dans la pellicule, les pépins et la rafle du raisin. Ils sont solubilisés dans le vin lors de la macération. Les briques élémentaires de ces tanins sont présentées dans la Figure III-1.

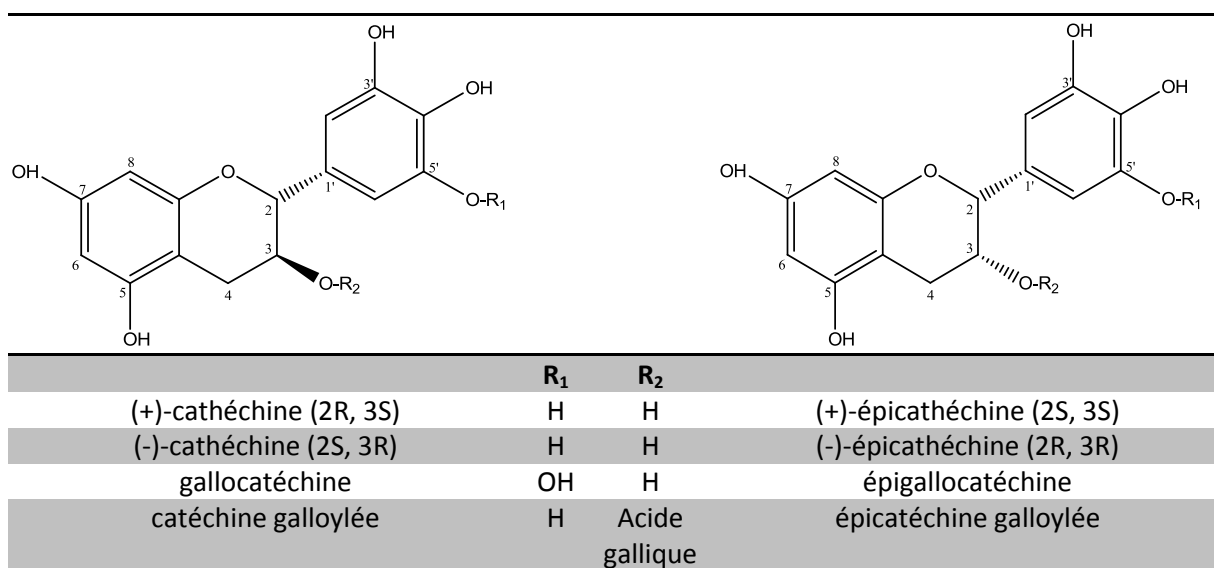


Figure III-1 : Représentation des monomères formant les tanins condensés

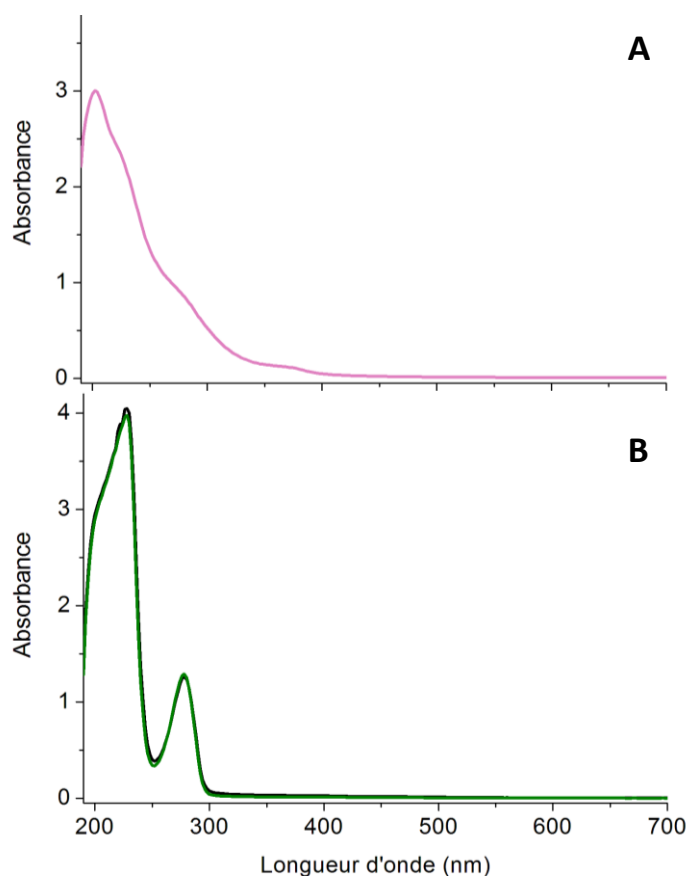
Ces briques ne sont pas présentes sous forme libre dans le raisin ou dans le vin. En effet, elles vont s'assembler pour former des oligomères (deux à cinq briques élémentaires) et des polymères (plus de six briques élémentaires). Deux briques se lient entre elles en formant des liaisons entre le carbone C_4 de l'une d'elles et les carbones C_6 ou C_8 de l'autre. Les polymères de catéchines sont nommés procyanidines et ceux à base de gallocatéchines sont appelés delphinidines. Ces tanins condensés ont la propriété de libérer des anthocyanes en milieu acide et chaud, comme c'est le cas pendant la macération. Les pépins libèrent des procyanidines, alors que les pellicules sont responsables de la présence des deux types de polymères.

III.2 Etude physico-chimique

Dans cette étude, nous nous intéresserons à plusieurs solutions modèles dont les composés ont été fournis par l'Institut des Sciences de la Vigne et du Vin (ISVV) de Villenave d'Ornon. Nous disposons pour étudier les tanins hydrolysables d'extraits de tanins de bois de chêne et pour les tanins condensés de catéchine, d'épicatéchine, d'extraits des tanins provenant des pépins et de la pellicule des baies de raisin. Ces solutions modèles sont réalisées avec des concentrations d'environ 0,5 g/L.

III.2.1 L'absorption UV-visible

Les spectres d'absorption UV-visible des solutions modèles de tanins sont présentés dans la Figure III-1.



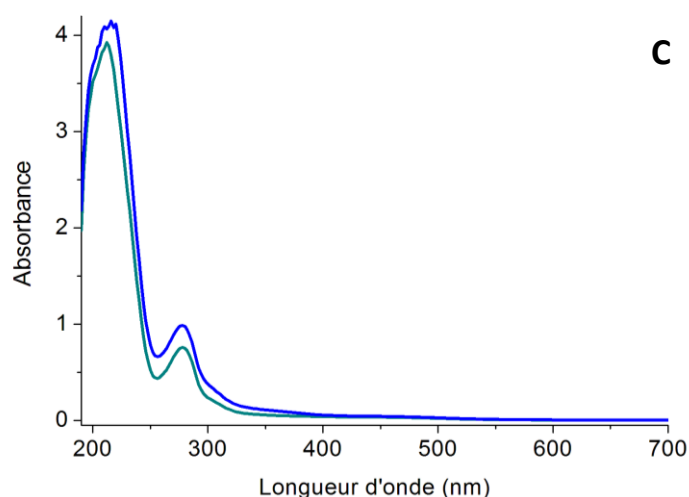


Figure III-1 : Spectres d'absorption UV-visible des solutions modèles (A) de l'extrait de tanins de bois de chêne, (B) de la catéchine (vert) et de l'épicatechine (noir), (C) de l'extrait de tanins de pépins (bleu) et de l'extrait de tanins de la pellicule (bleu clair)

La solution modèle d'extrait de bois de chêne présente un maximum d'absorption à 203 nm, avec une décroissance de l'absorption jusqu'à environ 400 nm. Le spectre est complexe avec plusieurs autres maxima vers 223, 280 et 370 nm. Les solutions modèles de catéchine et d'épicatechine ont des spectres d'absorption d'UV-visible identiques, comme attendu puisque ces molécules sont des stéréo-isomères, avec deux maxima d'absorption vers 225 et 277 nm. Ces solutions n'absorbent pas le rayonnement à des longueurs d'onde supérieures à 300 nm. Les solutions modèles de tanins de pépins et de pellicule ont un spectre d'absorption avec des maxima à 225 et 277 nm, comme pour la catéchine. Nous remarquons cependant deux absorptions de plus faible intensité vers 308 et 368 nm. Les solutions modèles de tanins de pépins et de pellicule absorbent faiblement le rayonnement pour des longueurs d'onde dans la gamme 300 - 400 nm. Les spectres des tanins condensés et de leurs briques élémentaires (catéchine) sont donc similaires. Nous pouvons remarquer que le spectre d'absorption de ces tanins présente un maximum vers 277 nm, ce qui est le cas également pour les acides hydroxybenzoïques. Il sera par conséquent difficile de discriminer les acides hydroxybenzoïques des tanins condensés à partir des spectres d'absorption UV-visible.

III.2.2 Fluorescence

Les spectres de fluorescence reportés les Figure III-2 et Figure III-3 ont été enregistrés avec le spectrofluorimètre décrit dans l'annexe 1, les spectres étant donc corrigés de la fonction d'appareil. En excitant la solution modèle de tanins de bois à une longueur d'onde de 276 nm, nous observons une fluorescence peu intense avec un maximum vers 304 nm. Pour une longueur d'onde d'excitation de 325 nm, nous observons une très faible émission de fluorescence avec un maximum vers 450 nm. L'extrait des tanins de bois contient certainement d'autres polyphénols (par exemple acides cinnamiques) qui sont à l'origine de cette faible émission vers 450 nm.

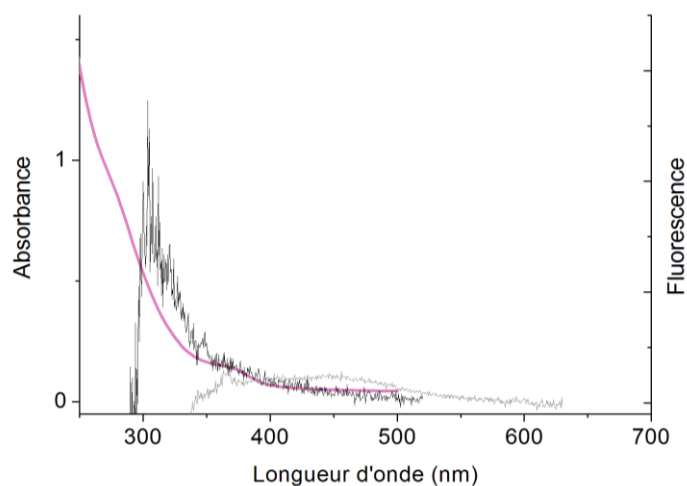


Figure III-2 : Spectre d'absorption UV-visible (en rose) et de fluorescence de l'extrait de tanins de bois pour des excitations à 276 et 350 nm.

Les spectres d'absorption UV-visible des solutions modèles de tanins condensés présentent un maximum vers 277 nm. Les spectres d'émission de fluorescence (Figure III-3) obtenus en excitant ces solutions à une longueur d'onde de 276 nm présentent un maximum de fluorescence vers 305 nm. Pour des longueurs d'onde d'excitation supérieures à environ 300 nm, la fluorescence des solutions modèles est négligeable.

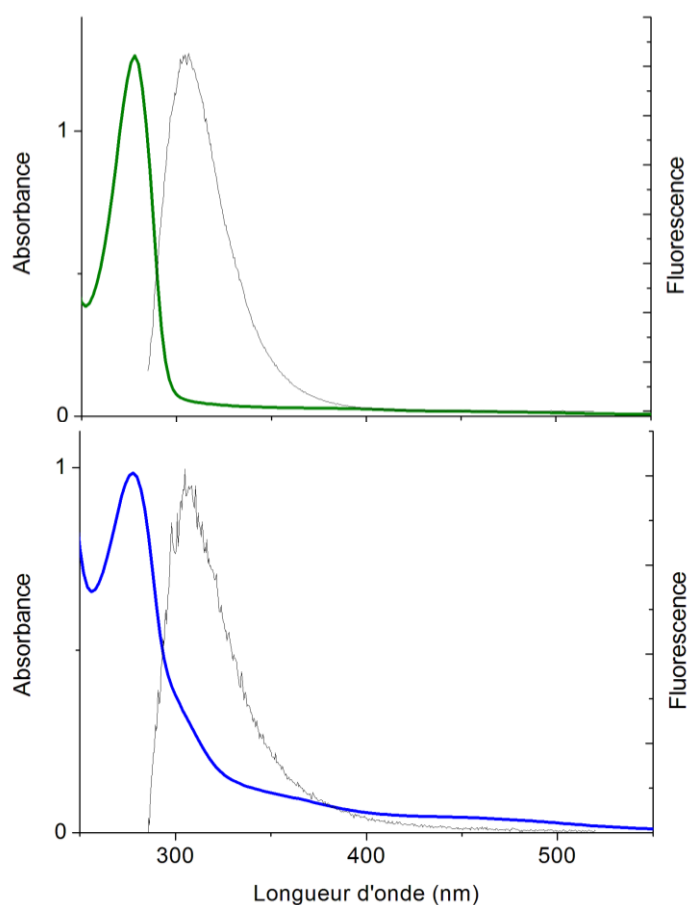


Figure III-3 : Spectre d'absorption UV-visible et de fluorescence de la catéchine (en haut) et des tanins de pellicule (en bas) à une excitation de 276 nm.

Nous venons de voir que ces familles de tanins attendues dans les vins rouges ont des maxima d'absorption dans l'ultra-violet. En ce qui concerne la fluorescence, nous avons vu qu'elle pouvait être détectée pour les tanins condensés vers 305 nm à condition d'exciter les solutions à des longueurs d'onde autour du maximum d'absorption vers 276 nm. La fluorescence des tanins hydrolysables est toujours d'assez faible intensité. En conclusion, la forte émission de fluorescence des vins rouges (Figure II-7 du chapitre 1) pour des excitations de longueurs d'onde supérieures à 300 nm n'est pas attribuable aux tanins.

III.2.3 La diffusion Raman

Dans la Figure III-4 sont présentés les spectres Raman non corrigés de leur ligne de base des solutions modèles des tanins étudiées à deux longueurs d'onde d'excitation différentes, 532 nm et 325 nm.

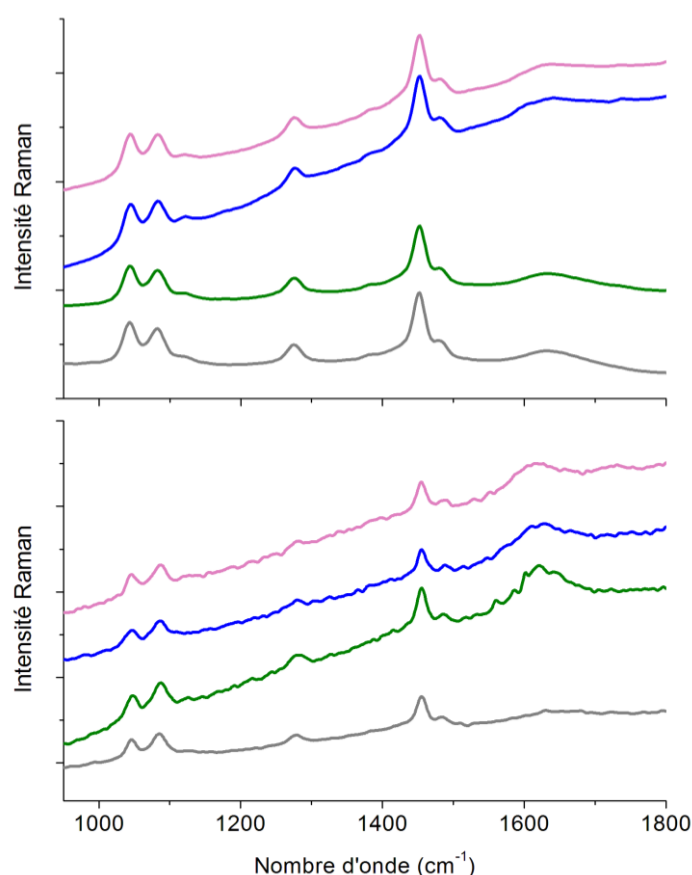


Figure III-4 : Spectres Raman à 532 nm (en haut) et 325 nm (en bas) de la solution mère (gris), de la solution modèle de catéchine (vert), de celle de tanins de pellicule (bleu) et celle de tanins de bois (rose)

Pour une excitation de 532 nm, nous observons bien entendu pour toutes les solutions modèles les raies Raman attribuées à l'éthanol et à l'eau (Tableau I-1 du chapitre 2). La solution modèle de catéchine ne présente pas de fluorescence, contrairement aux deux solutions de tanins qui présentent un très faible fond de fluorescence. Pour une excitation de 325 nm, les trois solutions modèles de tanins présentent un fond de fluorescence également peu intense. Nous n'observons pas de pics Raman supplémentaires par rapport aux spectres enregistrés à 532 nm pour la solution modèle de tanins de pellicule ou pour celle de catéchine. En revanche, nous observons pour la

solution modèle de tanins de bois une raie large et très peu intense vers 1730 cm^{-1} sûrement due aux vibrations des groupements C=O. Puisqu'il n'y a pas de phénomène résonnant permettant d'exalter la diffusion Raman, il nous semble donc impossible de détecter la présence de tanins dans les vins par cette méthode.

IV Conclusion

Lors de ce chapitre, nous avons étudié deux familles de composés présents dans les vins rouges : les anthocyanes et les tanins. Les anthocyanes sont des composés colorant et fluorophore qui ont des réponses optiques très spécifiques que cela soit en absorption UV-visible, en émission de fluorescence ou en diffusion Raman de résonance. Cela n'est pas le cas pour les solutions modèles de tanins qui n'absorbent que très peu dans notre domaine d'étude et dont les concentrations dans le vin sont telles que les pics de diffusion Raman ne sont pas observables.

Nous avons vu que les anthocyanes, à travers une solution modèle de malvidine 3-O-glucoside, sont des composés complexes qui présentent de nombreuses formes en équilibre suivant le pH de la solution. Nous avons, durant ce chapitre, essayé d'attribuer les différentes réponses optiques observées pour les trois méthodes d'analyses. Nous retrouvons bien pour l'absorption UV-visible et l'émission de fluorescence des signaux comparables à ceux observés dans le vin rouge. Or, le Raman de résonance observé pour la solution modèle de malvidine 3-O-glucoside pour une excitation de 532 nm, n'est pas visible dans le spectre de vin rouge pour des mesures réalisées dans des conditions similaires. Ainsi, la fluorescence observée dans ce type de vin semble plus intense que celle de nos solutions modèles. Nous pouvons faire l'hypothèse qu'il existe soit d'autres composés phénoliques qui fluorescent également dans ce domaine, soit que les anthocyanes se sont polymérisés par co-pigmentation ce qui peut entraîner une augmentation de la fluorescence.

Comme pour le chapitre précédent, le fait d'obtenir des réponses optiques caractéristiques pour les anthocyanes est une perspective intéressante pour réaliser des analyses chimiques ou tenter l'authentification des vins.

CHAPITRE 4 :

Etude sur des cas réels

I	Le vin	126
I.1	Etude de vins blancs	126
I.1.1	L'absorption UV-visible	127
I.1.2	La fluorescence	128
I.1.3	La diffusion Raman	129
I.2	Etude de vins rouges	131
I.2.1	L'absorption UV-visible	132
I.2.2	La fluorescence	134
I.2.3	La diffusion Raman	135
II	La bouteille de vin fermée : le contenant et le contenu	136
II.1	Les étiquettes et capsule	137
II.1.1	Les pigments	137
II.2	Le verre de bouteille	139
II.2.1	Verre sodocalcique	139
II.3	Analyse par spectroscopies optiques	141
II.3.1	L'absorption UV-visible du verre	141
II.3.2	La fluorescence du verre	142
II.3.3	La diffusion Raman du verre	143
II.3.4	Impact du signal transmis à travers du verre	145
III	Discussion et conclusions	148

Chapitre 4 : Etude sur des cas réels

Ce dernier chapitre s'appuie sur l'ensemble des connaissances présentées précédemment pour essayer de répondre à la problématique industrielle. L'objectif principal de cette thèse est de déterminer le potentiel de la spectroscopie Raman pour l'authentification et la lutte contre la contrefaçon, ainsi que pour l'expertise analytique dans le domaine du vin. Nous allons donc maintenant nous intéresser non plus à des solutions modèles, mais à un échantillonnage réduit de différents vins. Ainsi nous évaluerons l'effet du cépage et du terroir à travers l'étude de vins blancs issus de micro-vinifications et l'étude de vins rouges du commerce d'origines diverses. L'objectif de ce chapitre est d'évaluer qualitativement le potentiel de la spectroscopie d'émission du rayonnement pour des analyses de vrais vins.

Nous détaillerons également une autre application de la spectroscopie Raman pour étudier les vins. En effet, il est également intéressant pour révéler des contrefaçons d'analyser les différents éléments solides de la bouteille. Des incohérences sur le contenant sont des éléments de suspicion quant à l'origine du vin pouvant justifier l'ouverture de la bouteille pour en analyser le contenu. La spectroscopie Raman permet l'étude vibrationnelle des parties « solides », c'est-à-dire des étiquettes, des capsules et des verres de bouteille. Finalement, nous aborderons brièvement la mesure du spectre du vin directement à travers le verre de la bouteille, c'est-à-dire sans son ouverture. L'intérêt industriel n'est pas d'analyser la composition chimique des vins, mais de réaliser une identité « optique » à des fins de traçabilité et pour lutter contre des contrefaçons.

I Le vin

Les études sur des solutions modèles des chapitres précédents ont permis d'identifier une partie des différents marqueurs optiques présents dans les vins blancs et/ou rouges. Dans cette partie, nous nous focaliserons sur les différentes réponses optiques obtenues pour divers vins. Nous avons, comme pour les solutions modèles, séparé les études de vins blancs de celles de vins rouges. Dans une première partie I.1, nous présenterons les résultats obtenus pour une étude de micro-vinifications de vins blancs provenant du SCL33 (Service Commun des Laboratoires DGDDI et DGCCRF de Bordeaux). Ces vins sont réalisés par la répression des fraudes et sont constitués d'un seul cépage. Dans une seconde partie I.2, nous nous consacrerons, à travers l'étude de vins rouges du commerce, à évaluer de possibles corrélations entre l'origine du terroir et les informations collectées par les différentes spectroscopies.

I.1 Etude de vins blancs

Les micro-vinifications de vins blancs utilisées sont pour le SCL des échantillons de référence pour le cépage, le millésime et la région. Ce type de vin est vinifié par leur soin, ils disposent de parcelles représentatives de toutes les régions de France. Chaque micro-vinification résulte de la vendange d'une faible quantité de mono-cépages. Cette vinification est soumise à un protocole limitant l'impact de l'œnologue sur le résultat final. Les micro-vinifications choisies dans cette étude résultent de quatre cépages différents. Nous ne connaissons que le cépage et le millésime de la micro-vinification, l'origine géographique du raisin nous est inconnue. Nous disposons ainsi pour une micro-vinification d'un même cépage et d'un même millésime d'un lot d'échantillons dont les

origines géographiques sont différentes. Les concentrations des différents éléments du raisin, donc du vin, dépendent des conditions climatiques qu'il a subit durant sa maturation ainsi que des conditions de culture et de terroir. Certains cépages tels que le Chenin sont plus sensibles à ces facteurs. Il n'est pas surprenant d'avoir pour un même cépage de plusieurs millésimes des vins secs et sucrés. Par exemple en 2011, l'été fut chaud et relativement sec, ce qui favorise le sucre dans les baies, contrairement à l'été 2007 qui fût globalement très pluvieux et fort peu ensoleillé⁷. Nous avons analysé par spectroscopie Raman (partie I.1.3) les vins sucrés et les vins secs. Nous avons choisi de présenter les résultats obtenus selon ces deux types de vins blancs. Nous utiliserons pour cette étude de vins blancs secs trois types de micro-vinifications dont les cépages sont Sauvignon, Chardonnay et Chenin 2007. Pour l'étude des vins blancs sucrés, nous analyserons deux types de micro-vinifications dont les cépages sont Chenin 2011 et Petit Manseng.

I.1.1 L'absorption UV-visible

Dans cette partie, nous étudierons les spectres obtenus par absorption UV-visible en fonction du cépage de la micro-vinification. Dans la Figure I-1-A sont reportés les spectres des trois types de vins blancs secs et dans la Figure I-1-B ceux des deux types de vins blancs sucrés.

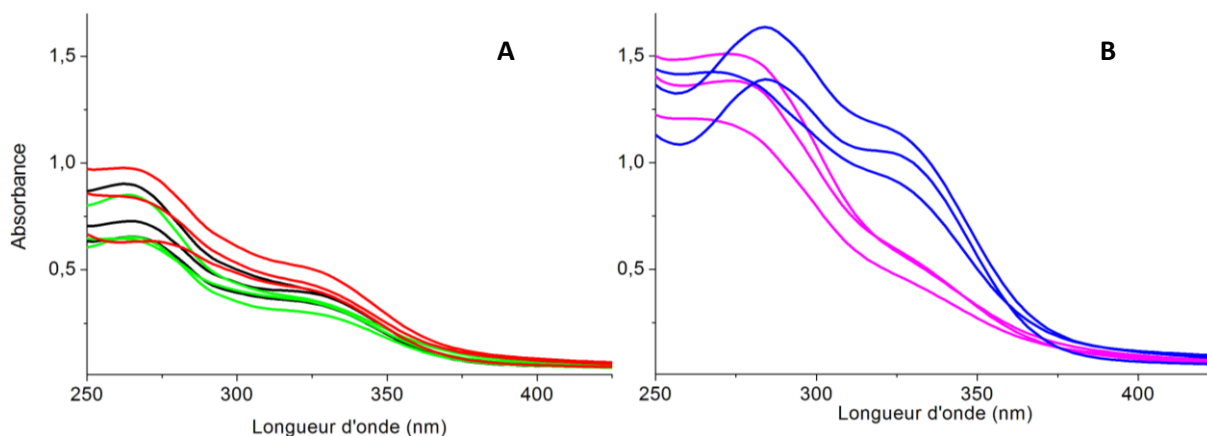


Figure I-1 : Spectres d'absorption UV-visible des micro-vinifications (A) de vins blancs secs (Sauvignon (vert), Chardonnay (noir), Chenin 2007 (rouge)), et (B) de vins blancs sucrés (Chenin 2011 (rose) et petit Manseng (bleu)).

Avant toute chose il convient de remarquer que les spectres d'échantillons différents d'une même micro-vinification sont semblables, mais loin d'être identiques. En principe le protocole d'élaboration de ces vins limite l'impact du vigneron. Ces différences sont donc vraisemblablement imputables en grande partie à la nature des sols et au climat propres à la région de production.

Dans le chapitre 2, nous avons constaté la présence de deux bandes d'absorption UV-visible pour les solutions modèles de vins blancs situées vers 275 et 330 nm. Nous les retrouvons dans les spectres des vins résultant des micro-vinifications. La bande due aux acides hydroxycinnamiques est toujours observée avec un maximum d'absorption vers 330 nm. La bande due en partie aux acides hydroxybenzoïques présente un maximum se situant entre 265 à 285 nm suivant le cépage. En effet, cette bande d'absorption permet d'avoir une information sur la composition globale en polyphénols et non sur celle d'une seule famille chimique.

⁷ <http://www.meteofrance.fr/climat-passe-et-futur/bilans-climatiques>

Pour des longueurs d'onde inférieures à 350 nm l'absorbance des vins sucrés est supérieure à celle observée pour les vins blancs secs. Nous constatons dans la Figure I-1-B que les deux types de vins blancs sucrés ont des profils d'absorption très différents, les vins de petit Manseng présentent une bande à 330 nm très intense par rapport à celle du vin de Chenin 2011. En revanche les profils d'absorption vers 330 nm des vins blancs secs sont assez semblables.

I.1.2 La fluorescence

Nous avons constaté que toutes les micro-vinifications ont un maximum d'absorption UV-visible à 330 nm et que l'absorption au-dessus de 400 nm est très faible. Les spectres LIF obtenus pour une excitation de 325 nm sont présentés dans les Figure I-2A pour les blancs secs et I-2B pour les blancs sucrés. En excitant à cette longueur d'onde, nous obtenons des informations sur la fluorescence des acides hydroxycinnamiques (cf. chapitre 2, II.3).

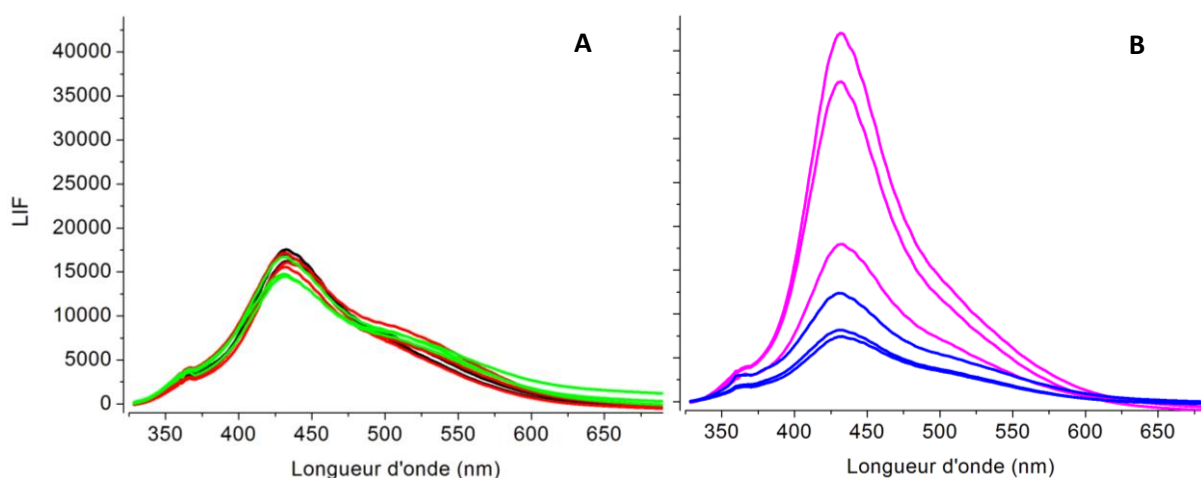


Figure I-2 : Spectres de fluorescence pour une excitation à 325 nm des micro-vinifications (A) de vins blancs secs (Sauvignon (vert), Chardonnay (noir), Chenin 2007 (rouge)), et (B) de vins blancs sucrés (Chenin 2011 (rose) et petit Manseng (bleu)).

Les différents vins blancs secs étudiés ont une absorbance à 325 nm d'intensité similaire, ce qui se retrouve dans l'intensité des spectres LIF. Cependant, les spectres des vins blancs sucrés ne suivent manifestement pas cette règle. Les vins de Chenin 2007 qui présentent une absorbance d'environ 0,55 ont une émission de fluorescence beaucoup plus élevée que celle des vins de Petit Manseng dont l'absorbance est environ deux fois plus grande. Nous pouvons également constater que ce dernier cépage présente une intensité de fluorescence inférieure à celle obtenue pour les vins blancs secs.

L'intensité de fluorescence est liée à l'absorption de l'échantillon à la longueur d'onde d'excitation, mais également à la section efficace de fluorescence des molécules excitées. Ainsi, l'intensité de fluorescence semble être une information intéressante pour distinguer les deux vins sucrés. Nous remarquons également que les spectres présentent des profils différents au niveau de l'épaule vers 525 nm par rapport au maximum de fluorescence situé pour tous les spectres à 431 nm. Dans la Figure I-3 sont reportés ces mêmes spectres normalisés par rapport à l'intensité au maximum de fluorescence. On peut ainsi remarquer que les profils spectraux sont dans l'ensemble assez semblables alors que les intensités de fluorescence sont très différentes.

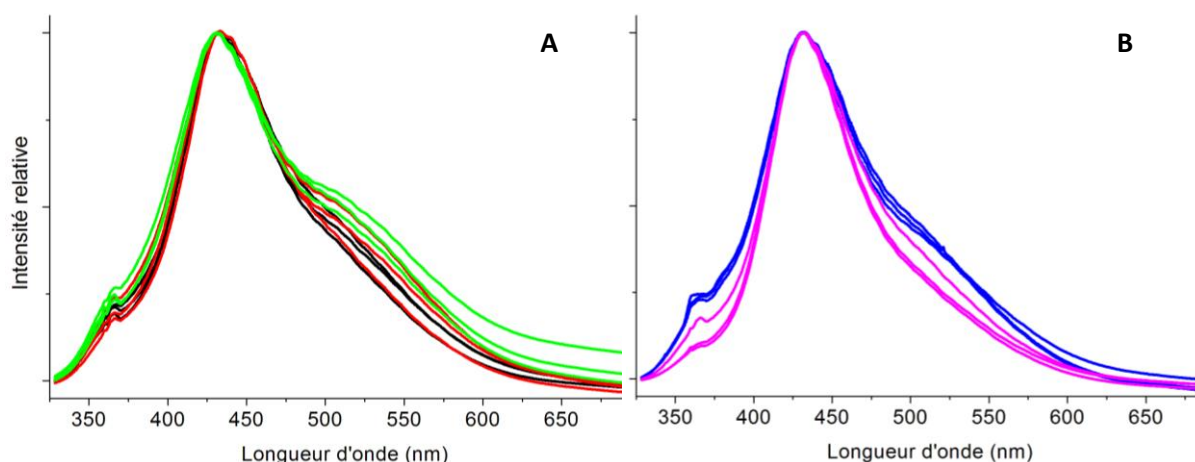


Figure I-3 : Spectres de fluorescence (excitation 325 nm) normalisés des micro-vinifications (A) de vins blancs secs (Sauvignon (vert), Chardonnay (noir), Chenin 2011 (rouge)), et (B) de vins blancs sucrés (Chenin 2007 (rose) et petit Manseng (bleu)).

I.1.3 La diffusion Raman

Dans le chapitre 1 partie II.3.2., nous avons montré que les différents vins présentaient un doublet de Raman de résonance vers 1600 cm^{-1} attribué aux acides hydroxycinnamiques pour une excitation à 325 nm. Il est connu que la concentration en acides phénoliques d'un vin dépend en partie du cépage [106][107].

Pour traiter ces spectres, nous avons adopté une méthodologie similaire à celle exposée au chapitre 2. Dans la Figure I-4 sont représentés les spectres Raman auxquels ont été soustraits le fond de fluorescence pour trois vins blancs secs résultant des micro-vinifications. L'intensité maximale du pic à 880 cm^{-1} dû à l'éthanol est normalisée à 1. Pour chaque spectre nous avons représenté les pics associés à l'éthanol en gris. Nous retrouvons bien dans la Figure I-4 les raies de RR caractéristiques des acides hydroxycinnamiques qui sont représentées par des courbes de couleur bleue. L'écart entre les maxima du doublet vers 1600 cm^{-1} est de $23 - 25\text{ cm}^{-1}$ pour les trois spectres. Nous observons cependant de nombreuses variations des intensités et des profils des raies suivant le cépage. Par exemple, l'intensité maximale du doublet vers $1600 - 1630\text{ cm}^{-1}$ est de 0,4 pour le Sauvignon, de 0,7 pour le Chenin de 2007 et de 0,9 pour le Chardonnay. Nous observons une légère modification dans la forme de ce massif, que ce soit au niveau de sa base ou que ce soit au niveau des intensités des deux maxima. En effet, la base du doublet est plus large pour le Sauvignon et le Chenin (48 cm^{-1}) que pour le Chardonnay (40 cm^{-1}) et le rapport d'intensité des deux bandes varie de 1,2 pour le Sauvignon à 1,4 pour le Chardonnay.

Le doublet vers 1200 cm^{-1} attribué à l'acide p-coumarique (chapitre 2 partie II.4.1.4) est observable dans tous ces spectres. Son intensité n'est pas proportionnelle à celle du doublet à 1600 cm^{-1} . En comparant les intensités des pics à 1605 cm^{-1} et à 1175 cm^{-1} , il semble que le vin de cépage Chenin présente une plus faible quantité de cet acide ($I_{1605}/I_{1200} = 7,1$) que le Chardonnay (6,9) ou le Sauvignon (6,6). Par ailleurs, ce rapport d'intensité mesuré sur la solution modèle d'acide p-coumarique est de 2,7. Manifestement, nous avons bien un mélange d'acides libres et/ou associés dans ces vins. Sans courbe de calibration adaptée, il paraît difficile d'attribuer de façon précise la contribution de chaque acide hydroxycinnamique dans ces différents spectres.

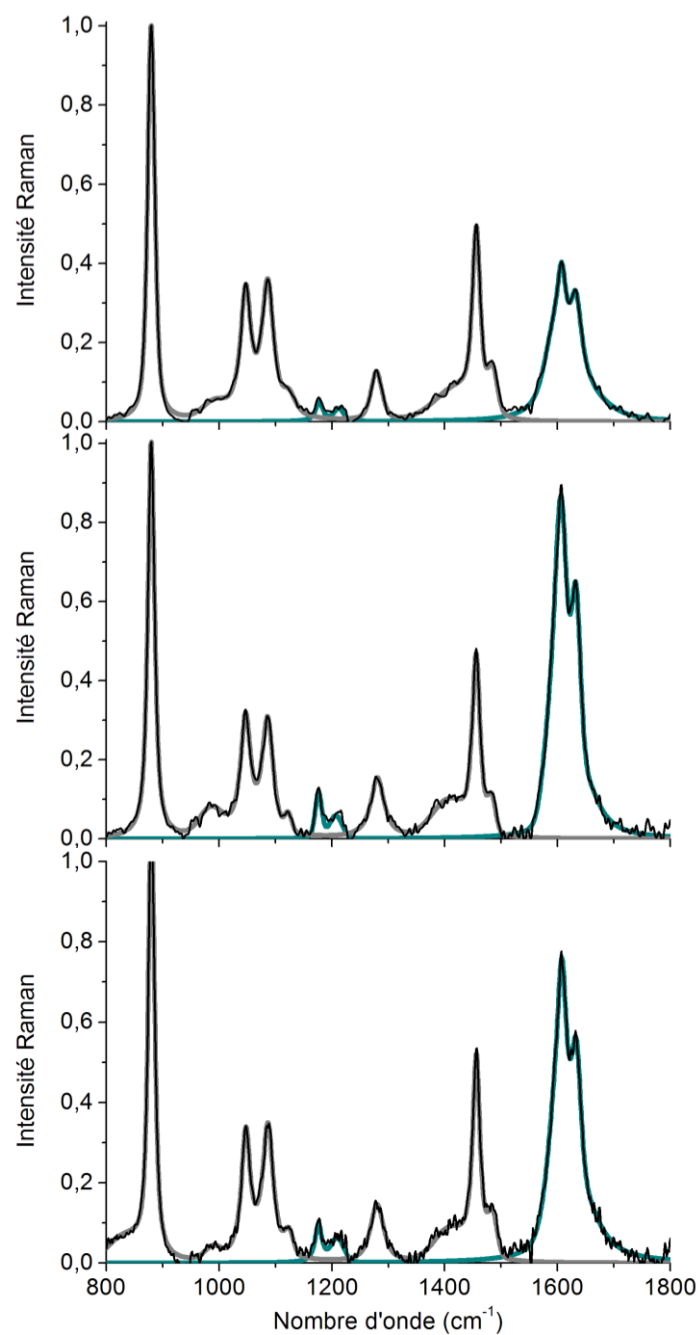


Figure I-4 : Spectres Raman à 325 nm des micro-vinifications de Sauvignon (a), de Chardonnay (b) et de Chenin 2007 (c). Les courbes en gris représentent le spectre de l'éthanol et les courbes en bleu les spectres des acides hydroxycinnamiques.

De façon similaire, nous pouvons étudier la diffusion Raman des vins blancs sucrés dans la Figure I-5.

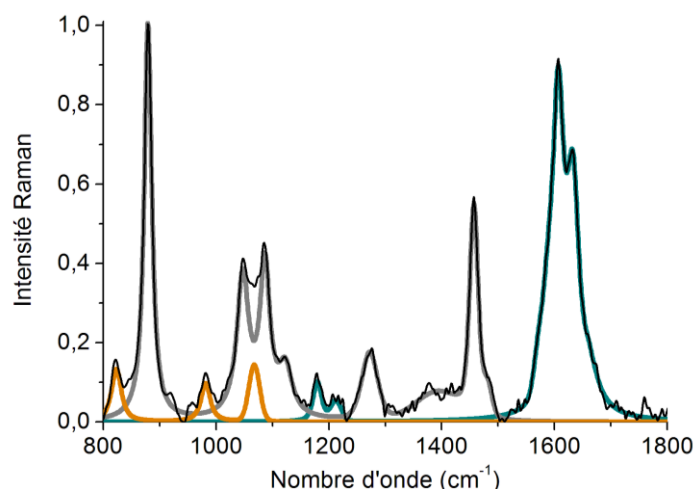


Figure I-5 : Spectres Raman à 325 nm des micro-vinifications de Chenin 2011.

Nous observons là encore des variations d'intensité et de profils pour les pics Raman attribués aux acides hydroxycinnamiques. Nous constatons également pour le Chenin la présence de trois pics vers 823, 980 et 1067 cm^{-1} (courbe orange) attribués aux sucres dans ce vin et principalement au fructose (Tableau III-4 du chapitre 2). Dans la Figure I-6, nous observons les variations d'intensité liées aux différentes concentrations en sucre suivant le cépage. Un dosage peut donc être facilement réalisé à l'aide d'une courbe de calibration adaptée.

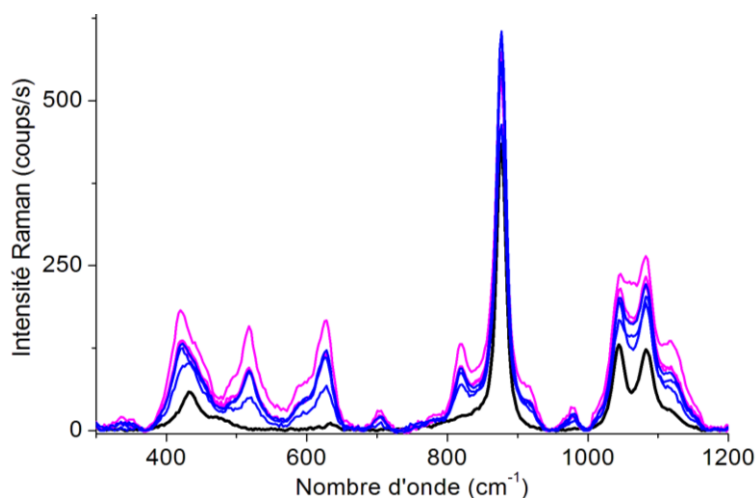


Figure I-6 : Spectre Raman à 785 nm des micro-vinifications de Chenin (rose), petit Manseng (bleu) et d'une micro-vinification non-sucrées (noir).

En utilisant les résultats obtenus par absorption UV-visible, émission de fluorescence et diffusion Raman, il est possible de discriminer ces vins blancs. Par ailleurs, il paraît possible de doser les différents acides et les sucres présents dans les vins en s'appuyant sur une calibration adaptée.

I.2 Etude de vins rouges

Comme nous l'avons vu dans les chapitres 1 et 3, les vins colorés sont des solutions plus complexes que les vins blancs. Les vins rouges semblent présenter une absorption UV-visible et une émission de fluorescence plus discriminantes que celles des vins non macérés.

L'étude est réalisée sur dix bouteilles de vins rouges du commerce- L'origine des bouteilles fût choisie en fonction de l'importance de l'implantation des cépages dans les régions [108]. Ainsi, nous disposons de quatre bouteilles de vin Bordelais (BX#, # = 1 ... 4), de trois bouteilles du sud-est de la France (S#, # = 1 ... 3), d'une de vallée de la Loire (L1) dont l'origine, le millésime et les cépages sont reportés le Tableau I-1 et qui sont localisés sur la Figure I-7. Cette étude est complétée par deux bouteilles d'origine étrangère (E#, # = 1, 2) : une d'Italie et une de Tunisie.

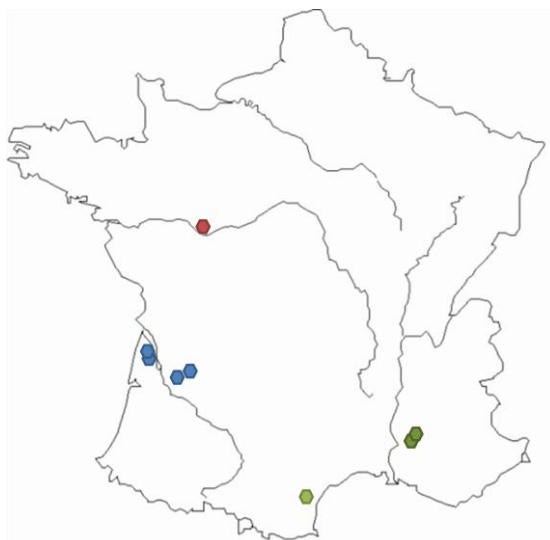


Figure I-7 : Carte de France avec le terroir des différents vins étudiés c'est-à-dire les vins du Bordelais (bleu), les vins du sud-est (rouge) et de la Loire (vert)

Tableau I-1 : Les données commerciales de ces vins rouges avec leur origine, leur millésime et leurs cépages.

	origine	année	cépage
BX1	Entre deux mers	2011	merlot, Cabernet Sauv
BX2	Côte de bourg	2009	merlot noir
BX3	Médoc	2009	Cabernet Sauv, Cabernet franc, merlot noir
BX4	St émilion	2008	merlot noir, Cabernet Sauv, Cabernet franc
E1	Italie	2011	sangiovese
E2	Tunisie		cabernet sauv, syrah, merlot
L1	Saumur	2009	cabernet franc
S1	Corbiere	2011	syrah
S2	Ventoux	2011	Carignan, Grenache, Syrah
S3	Ventoux	2011	grenache, syrah

Chaque vin est annoté par un code.

I.2.1 L'absorption UV-visible

Dans les deux chapitres précédents, nous avons attribué les absorptions observées à des longueurs d'onde supérieures à 250 nm aux différents polyphénols des vins tels que les acides phénoliques et les anthocyanidines. Dans le chapitre 1 partie II-1, nous avons mentionné l'une des méthodes les plus utilisées pour l'étude colorimétrique des vins. Ces mesures sont réalisées par l'étude des intensités d'absorption obtenues pour quatre longueurs d'onde dont trois dans le visible

(420, 520, 620 nm). A partir des densités optiques, il est possible de déterminer l'intensité colorante IC du vin ($IC = DO_{420} + DO_{520} + DO_{620}$) et sa teinte ($T = DO_{420} / DO_{520}$).

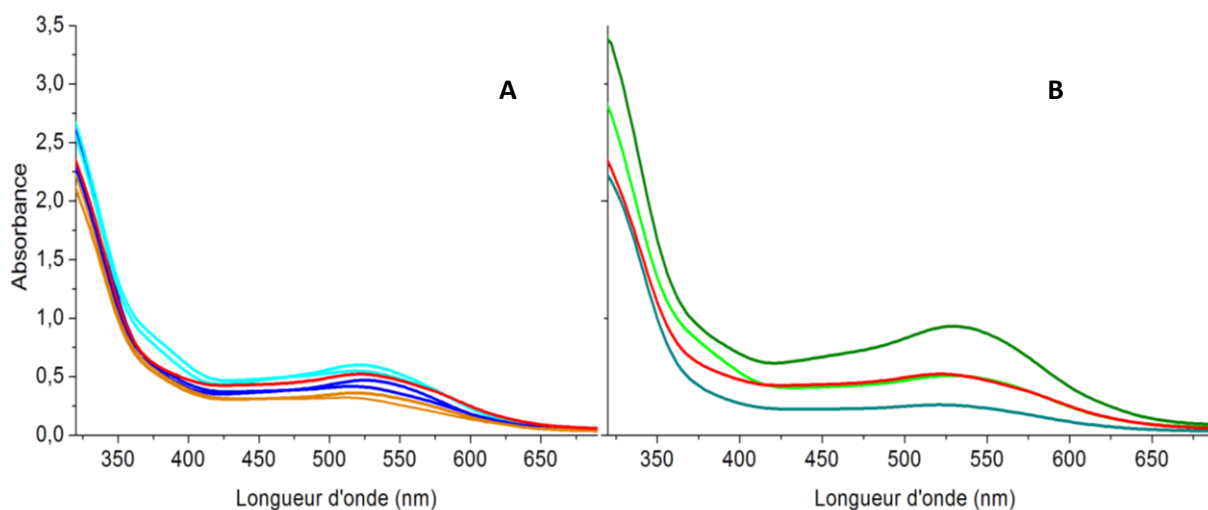


Figure I-8: Spectres d'absorption UV-visible pour 1 mm de chemin optique. A : vins du Bordelais (bleu), de l'étranger (orange) et de la vallée de la Loire (rouge), B : vins de la vallée de la Loire (rouge) et du sud-est de la France (vert)

Dans la Figure I-8-A sont représentés les spectres d'absorption UV-visible des vins provenant du Bordelais, de la Loire et de l'étranger. Nous constatons que ces spectres ont une allure générale très proche et présentent la bande d'absorption vers 525 nm due à la forme flavylum de la malvidine. Nous constatons une variation d'intensité autour de 375 nm suivant les vins due en partie aux formes chalcone de la malvidine. Dans la figure I-8-B sont reportés les spectres du vin de la vallée de la Loire et ceux du sud-est de la France. Dans le Tableau I-2 sont compilées les valeurs des densités optiques mesurées aux trois longueurs d'onde permettant de déterminer l'intensité colorante et la teinte des différents vins étudiés.

Tableau I-2 : Caractéristiques des 10 vins rouges par les densités optiques DO_{420} , DO_{520} et DO_{620} , ainsi que l'intensité de couleur et la teinte des vins.

nm	BX1	BX2	BX3	BX4	E1	E2	L1	S1	S2	S3
620	0.115	0.153	0.142	0.122	0.102	0.098	0.165	0.162	0.080	0.273
520	0.467	0.549	0.600	0.416	0.361	0.317	0.522	0.505	0.260	0.916
420	0.352	0.474	0.437	0.375	0.311	0.324	0.427	0.418	0.228	0.616
IC	0.935	1.175	1.180	0.914	0.774	0.739	1.114	1.085	0.567	1.804
T	0.754	0.864	0.729	0.901	0.862	1.020	0.818	0.829	0.876	0.672

Nous constatons qu'à l'exception d'un des vins (S2) du sud-est de la France, les vins étrangers présentent un indice colorimétrique nettement plus faible que les vins français ($0,7 < 0,9$), alors que la teinte ne semble pas être un facteur discriminant sur l'origine des vins. Par ailleurs un autre vin du sud-est de la France (S3) présente une forte absorption sur tout le domaine spectral avec une intensité colorante largement supérieure à celle des autres vins. Ainsi pour des vins rouges issus d'une même région de production, l'intensité colorante peut couvrir un domaine très large. Comme nous pouvons le constater, même si nous pouvons dégager des tendances permettant d'identifier l'origine d'un vin à partir de son spectre d'absorption UV-visible, il y aura toujours des exceptions en nombre assez conséquent.

I.2.2 La fluorescence

Dans le chapitre 1 nous avons vu que, contrairement aux vins blancs, le vin rouge présente une fluorescence particulièrement intéressante pour une excitation à 325 nm. A cette longueur d'onde d'excitation, le spectre du vin rouge analysé présentait trois bandes de fluorescence vers 360, 380 et 425 nm. La bande vers 425 nm semble être due à un mélange d'acides hydroxycinnamiques et à la forme chalcone C1 de la malvidine 3-O-glucoside et nous ne sommes pas parvenus à proposer, dans les chapitres précédents, une attribution précise pour les deux autres bandes. Certains stilbènes tels que la trans-resveratrol et la trans-piceid peuvent être l'origine de cette fluorescence [109][110].

Selon la Figure I-8, tous les vins rouges étudiés ont des absorbances à 325 nm d'intensité comprises entre 1,9 et 3,2 pour un chemin optique de 1 mm. La Figure I-9 présente les spectres LIF des dix vins rouges de l'étude pour une excitation à 325 nm.

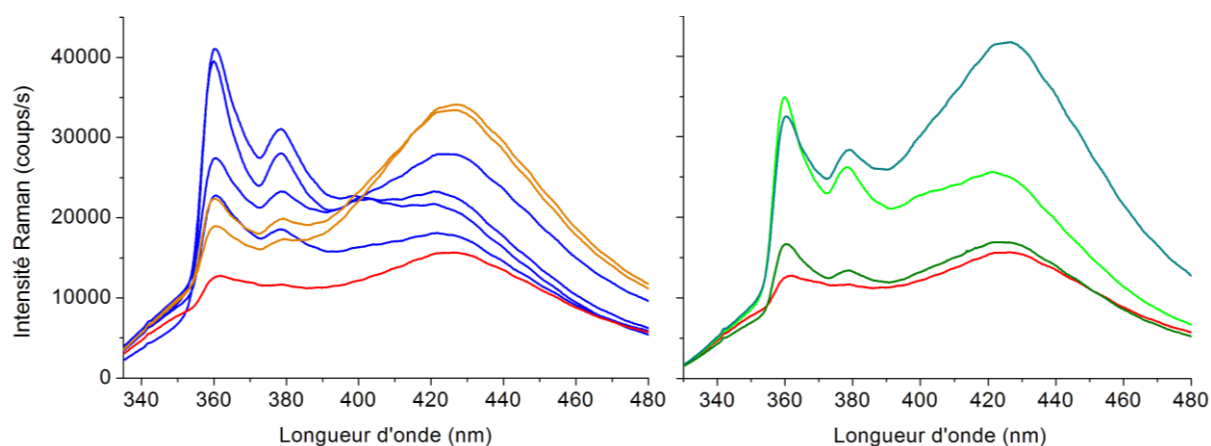


Figure I-9 : Spectre de fluorescence dans dix vins pour une excitation de 325 nm : vin du Bordelais (bleu), étranger (orange), de la vallée de la Loire (rouge) et du sud-est de la France (vert)

Les trois bandes de fluorescence sont observables pour tous ces vins rouges avec des maxima à 360, 379 et 425 nm. Nous constatons que chaque spectre est spécifique à chaque vin, même si nous pouvons retrouver quelques similitudes suivant son origine. Dans la Figure I-9, il est manifeste que les spectres peuvent être caractérisés par les rapports d'intensité I_{360} / I_{425} des maxima de fluorescence à 360 et 425 nm. Dans Tableau I-3 sont reportées les valeurs de ces rapports d'intensité pour les dix vins rouges étudiés.

Tableau I-3 : Intensités de fluorescence des trois bandes observées pour 10 vins rouges

	nm	BX1	BX2	BX3	BX4	E1	E2	L1	S1	S2	S3
brut	360.4	41059	22765	39339	27425	22380	18945	12611	34726	32535	16672
	378.6	31059	18534	27998	23264	19830	17254	11646	26214	28336	13391
	425.5	21040	17851	22727	27923	33386	34035	15629	25092	41715	16861
$I_{360} + I_{378} + I_{425}$		93159	59150	90064	78611	75596	70235	39887	86032	102586	46924
I_{360} / I_{425}		1,95	1,28	1,73	0,98	0,67	0,56	0,81	1,38	0,78	0,99

Les vins français présentent une valeur I_{360} / I_{425} comprise entre 1 et 2 alors que ce rapport d'intensités est d'environ 0,6 pour les vins.

Nous avons vu dans le chapitre 3 que la fluorescence obtenue vers 620 nm pour une excitation de 532 nm a principalement pour origine les formes flavylum de la malvidine aglycone, mono ou di-glucoside. Ainsi, il semble également intéressant d'étudier le LIF résultant de cette longueur d'onde. Les spectres LIF des dix vins rouges pour cette excitation sont présentés dans la Figure I-10.

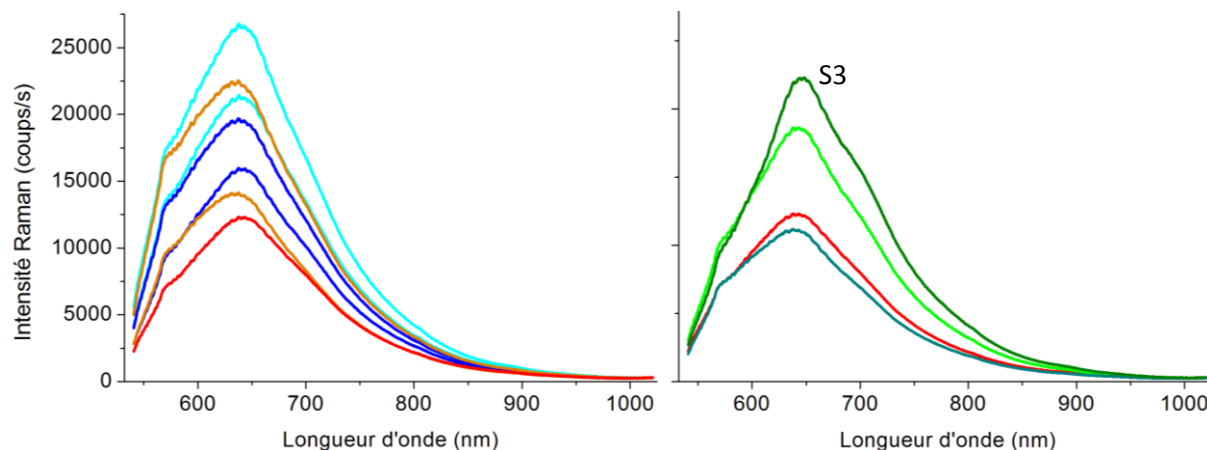


Figure I-10 : Spectres de fluorescence des dix vins rouges pour une excitation à 532 nm : vins du Bordelais (bleu), étrangers (orange), de la vallée de la Loire (rouge) et du sud-est de la France (vert)

Suivant le vin étudié, nous constatons une variation de la position du maximum de fluorescence situé entre 637 et 646 nm, alors que pour une excitation à 325 nm les positions des maxima étaient pratiquement identiques pour tous les spectres. Par exemple le vin du sud-est de la France S3 qui présente un maximum de fluorescence vers xxx nm alors que le maximum de fluorescence d'un vin du Bordelais se situe vers yyy nm. Par ailleurs les profils observés ne sont pas identiques, le spectre de fluorescence du vin S3 semble présenter une seconde bande vers 705 nm. Il est certain que ces spectres sont dus essentiellement à la malvidine sous toutes ses formes, c'est-à-dire associée à d'autres molécules ou polymérisée. Chaque vin, selon son millésime et bien entendu beaucoup d'autres facteurs, pourra ainsi être identifié par son spectre de fluorescence.

I.2.3 La diffusion Raman

La fluorescence est une information discriminante pour une excitation à 325 nm. Or à cette longueur de travail, il est également possible d'observer la diffusion Raman de résonance des acides hydroxycinnamiques. Comme pour les micro-vinifications, nous réaliserons un traitement de ligne base (Figure I-11).

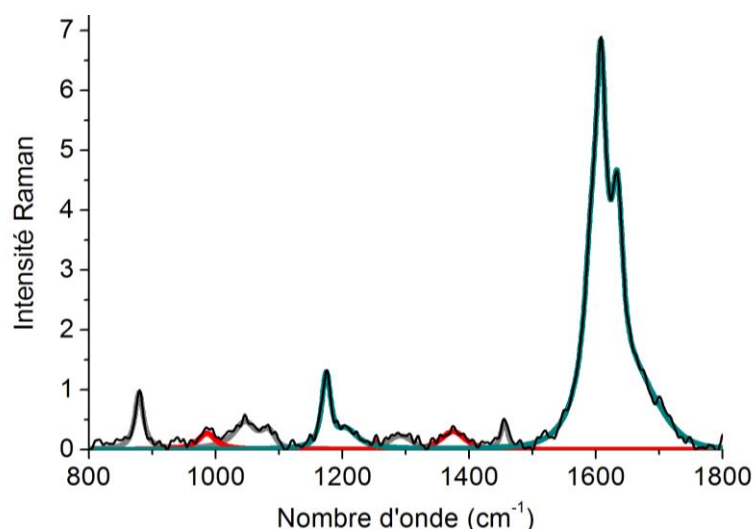


Figure I-11 : Spectres Raman à 325 nm du vin rouge S3 du sud-est de la France

Nous observons toujours les pics de l'éthanol vers 880, 1047, 1087, 1455 cm^{-1} (gris). Nous retrouvons également les pics dus aux acides hydroxycinnamiques vers 1600-1630 cm^{-1} (bleu) avec un écart entre les deux maxima de 26 cm^{-1} et le doublet de l'acide p-coumarique à 1175 et 1206 cm^{-1} (bleu). Il est donc possible, comme pour les vins blancs, de doser ces acides avec la mise en place d'une procédure de calibration adaptée. nous constatons la présence d'autres pics Raman (rouge) non attribués. Les autres longueurs d'onde disponibles au laboratoire ne permettent pas, quand la fluorescence n'est trop pas importante, l'observation de pic Raman supplémentaire à ceux de la solution mère.

Nous venons de voir qualitativement que les spectroscopies d'émission de fluorescence et Raman peuvent fournir des données analytiques pour différents types de vins du commerce. En effet, la fluorescence et la diffusion Raman de résonance sont deux informations discriminantes pour différencier des vins entre eux. Nous pouvons donc à priori établir une carte d'identité « optique » des vins blancs et rouges.

II La bouteille de vin fermée : le contenant et le contenu

Le « packaging » du vin est l'élément primordial de communication vers le consommateur, comme nous l'avons vu dans la partie II.1 de l'introduction. Les inscriptions sur les différentes parties de la bouteille permettent à l'acheteur d'identifier un vin. Or, si les étiquettes et la capsule sont des sources de renseignements pour le consommateur, elles le sont également pour identifier de possibles fraudes qu'elles soient visibles ou invisibles à l'œil nu comme décrit dans la partie I.4 de l'introduction. En effet, les méthodes d'impression et les pigments utilisés peuvent être caractéristiques d'un lot de bouteilles et ainsi recéler de nombreuses informations pour révéler une possible contrefaçon. Nous nous intéresserons donc dans un premier temps à ces éléments. Dans une seconde partie, nous décrirons les analyses réalisées par fluorescence et diffusion Raman du verre de la bouteille qui est également un élément important pour authentifier le produit. Finalement, nous présenterons quelques tests préliminaires pour l'obtention de spectres d'émission directement à travers la bouteille, sans ouverture de celle-ci.

II.1 Les étiquettes et la capsule

Rappelons que toutes nos analyses ont été réalisées en géométrie de réflexion, c'est-à-dire en analysant l'émission à 180° par rapport à la direction de propagation du rayonnement laser. Par ailleurs, le couplage du spectromètre à un microscope confocal permet l'analyse d'une petite surface (quelques μm^2) d'un échantillon. En effet, le spot du faisceau laser focalisé à la surface du matériau a un diamètre compris entre 0,5 et 5 μm , selon la longueur d'onde du laser et le type d'objectif utilisé. Ainsi, il est possible d'étudier des endroits très précis de l'objet, comme une écriture ou un dessin. Cette capacité d'analyser précisément, sans prélèvement ni destruction, la composition chimique d'une région micrométrique du matériau a été largement exploitée par exemple pour identifier [111][112] les pigments des objets du patrimoine ou des œuvres d'art, pour aider à leur authentification [113] et même à la détection des contrefaçons.

Ce type de dispositif permet une double étude. En effet, il est facile dans un premier temps de caractériser l'état de surface de l'échantillon, à l'aide du microscope, qui dépend de la méthode d'impression, du support et de la nature des pigments utilisés (minéraux, synthétiques...). Une fois la mise au point réalisée, nous enregistrons le spectre Raman sur des zones précises afin d'identifier le pigment ou le mélange de pigments employés.

Les étiquettes et la jupe de la capsule sont les principaux supports de communication. Mais c'est la calligraphie, les motifs et les pigments utilisés qui sont les vrais éléments de marketing.

Les capsules sont faites en étain, aluminium ou plastique injecté. Avant le 1^{er} janvier 1993⁸, elles pouvaient également être en plomb. Ces matériaux constituant la seconde barrière après le bouchon, protège le vin des agressions extérieures comme par exemple les parasites. Les capsules présentent des méthodes de dépôt de pigments spécifiques à chacune de ces surfaces. Elles peuvent aussi être colorées dans toute leur épaisseur pour des plastiques injectés. Ces techniques d'impression produisent une trame caractéristique pouvant être observée à l'aide d'un microscope. Nous pouvons trouver des trames d'aspects très variables, inhomogènes avec des amas de particules de différentes tailles, relativement homogènes avec des particules de taille semblable ou pouvant présenter une structuration de surface. Les étiquettes sont en papier (cellulose) et il en existe une très grande variété de textures. Quel que soit le support, nous serons en mesure d'analyser les pigments qui y sont déposés.

II.1.1 Les pigments

A des fins d'authentification dans le domaine du patrimoine culturel des banques de données spectroscopiques des pigments naturels ou synthétiques ont été peu à peu constituées [4][5]. Nous disposons au laboratoire de la banque de spectres élaborée par la société Horiba Jobin-Yvon que nous pouvons l'exploiter à l'aide du logiciel « Know-it-all » pour identifier les pigments qui constituent les encres des étiquettes et des capsules des bouteilles de vin. La police scientifique a également mis en place une large base de données permettant de reconnaître les encres et les imprimantes utilisées pour la certification de document.

⁸ Règlement (CEE) n°3279/92 du conseil, article 8 paragraphe 4bis, interdit les sur-bouchages en plomb pour les bouteilles de vins.

Les jupes des capsules peuvent présenter un large panel de couleurs. De nombreux pigments naturels ou synthétiques sont utilisés, purs ou mélangés. Certains pigments sont très largement utilisés par tous les fabricants de capsules et d'étiquettes, c'est le cas du rutile synthétique (TiO_2) qui donne une couleur blanche. Il est également utilisé pour éclaircir des mélanges de pigments. Le rutile n'est pas le seul à être couramment employé. En effet, nous trouvons souvent du carbone sur les capsules et les encres noires et de la crocoïte⁹ pour les capsules jaunes.

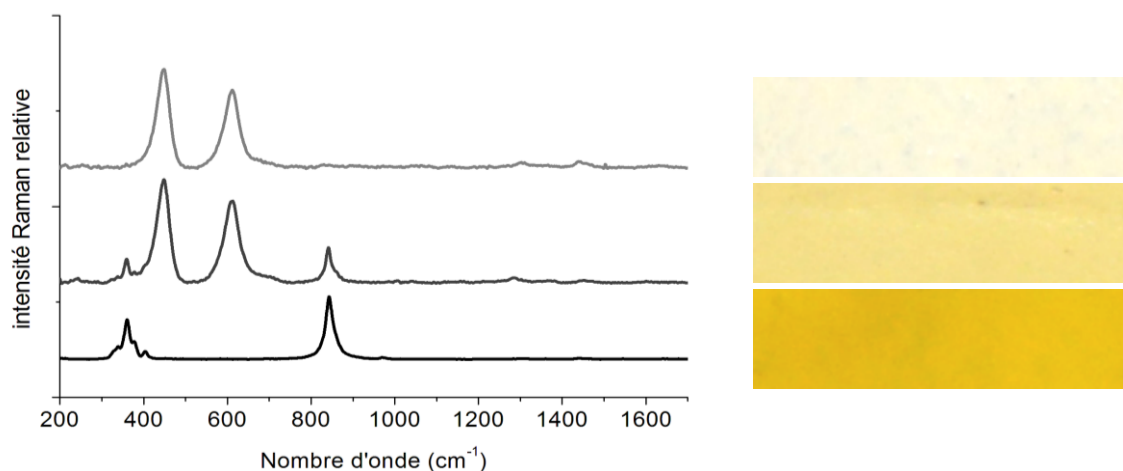


Figure II-1 : Spectre Raman à 785 nm de capsule blanche, jaune clair et jaune vif

Dans l'exemple de la

Figure II-1, la première capsule est colorée avec du rutile synthétique pur, la seconde avec un mélange de crocoïte et de rutile et la troisième avec de la crocoïte uniquement. Les spectres Raman sont simples avec deux pics à 445 et 612 cm^{-1} pour le TiO_2 et à 354 et 835 cm^{-1} pour la crocoïte.

Deux capsules de couleurs visuellement semblables peuvent présenter des pigments ou des mélanges de nature différente. C'est le cas dans l'exemple de la Figure II-2 où les motifs de couleur verte des deux capsules sont à l'œil identiques, mais sont en réalité très différents du point de vue chimique. En effet, les spectres Raman sont différents, prouvant ainsi que les pigments utilisés ne sont pas les mêmes. Nous n'avons pas cherché à identifier les mélanges de pigments utilisés.

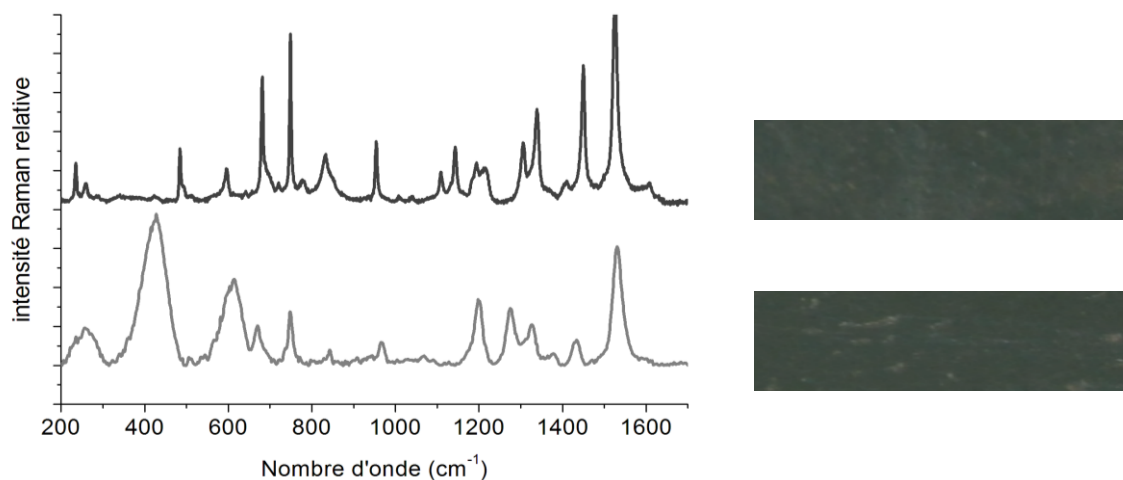


Figure II-2 : Spectre Raman à 785 nm de deux capsules vertes numéroté 1 (en haut) et 2 (en bas)

⁹ Espèce minérale du groupe des chromates de formule PbCrO_4

L'analyse des pigments permet d'aller au-delà de la détection d'une contrefaçon en comparant une référence et un objet suspect. En effet jusqu'à la fin du XIX^{ème} siècle, seulement une trentaine de colorants d'origine naturelle végétale, animale ou minérale sont connus. En 1856 est apparu en Grande-Bretagne le premier colorant organique de synthèse (mauveine). D'autres suivirent d'abord en Europe et se multiplièrent dans le monde au point qu'ils se comptent aujourd'hui par milliers. Nous disposons ainsi d'un moyen d'estimer l'âge d'une œuvre colorée par l'identification des pigments [116] en connaissant les dates auxquelles sont apparus pour la première fois ces pigments organiques synthétiques [117] produits industriellement. Ce principe est applicable aux packaging des bouteilles de vin, en particulier si le millésime est antérieur à la date d'apparition du pigment utilisé.

II.2 Le verre de bouteille

Le verre des bouteilles est également un témoin riche en informations à des fins d'authentification. Encore une fois, c'est dans le domaine des objets d'art et du patrimoine que la spectroscopie Raman a été exploitée pour analyser des verres et d'autres objets comme les céramiques et certains bijoux [8]–[11].

II.2.1 Verre sodocalcique

II.2.1.1 Structure du réseau vitreux

Le verre de bouteille est un verre sodocalcique [122], c'est-à-dire un matériau amorphe composé principalement de silice (SiO_2) combiné avec des oxydes alcalins Na_2O et CaO ainsi que d'autres composés en très faible quantité. Chacun de ces composants a un rôle, le SiO_2 est la base vitreuse (le réseau) dont la température de fusion est diminuée par le cation Na^+ qui est un modificateur de réseau. Le cation Ca^{2+} modifie également le réseau pour le rendre plus stable et donc chimiquement plus résistant. Les autres composants vont être employés pour modifier les propriétés optiques, mécaniques, électriques ...

Pour être plus précis, la silice amorphe forme une sorte de réseau tridimensionnel d'entités SiO_4 liées les unes aux autres : l'atome de silicium formant des liaisons covalentes avec 4 atomes d'oxygène et ceux d'oxygène sont liés à 2 atomes de silicium. Cette structure est représentée dans la Figure II-3 avec la forme Q^4 . Un atome d'oxygène commun à deux tétraèdres SiO_4 est dit « pontant ». Le rôle des oxydes alcalins est de modifier le réseau de silice formant ainsi un silicate. Ils provoquent la rupture aléatoire de certaines liaisons Si-O-Si . Plus la quantité de cations alcalins ajoutés est importante, plus le réseau de silice se dépolymérise. Nous aurons ainsi dans le silicate des entités SiO_4 notées Q^n où n est le nombre d'oxygènes pontants ($0 \leq n \leq 4$).

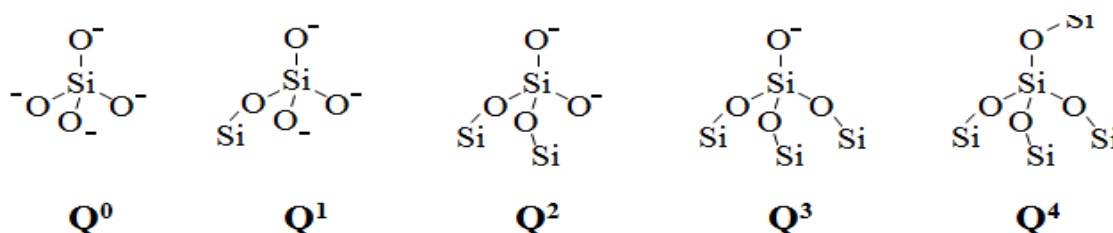


Figure II-3 : Dans le réseau polymérique de silice, tous les tétraèdres SiO_4 sont liés les uns aux autres via les atomes d'oxygène pontants (Q^4). Dans le silicate, l'ajout de cations alcalins va provoquer la dépolymérisation partielle du réseau de silice. Nous pourrions ainsi trouver des tétraèdres SiO_4 Q^n avec $0 \leq n \leq 4$.

II.2.1.2 Teinte du verre

Le verre de bouteille n'est pas seulement constitué de silice, d'oxyde de sodium et d'oxyde de calcium, d'autres éléments en très faible quantité sont également présents. En effet, la couleur de la bouteille vient directement de certains de ces composants. Dans le monde vinicole, il existe plusieurs couleurs pour les bouteilles. Les vins rosés et les vins blancs sucrés sont souvent présentés dans des bouteilles incolores alors que les vins blancs sec et les vins rouges sont eux fréquemment dans des contenants dont la couleur peut aller du vert au marron. Il a été remarqué de façon empirique que les vins se dégradent plus rapidement dans des bouteilles incolores que dans des bouteilles colorées. Ainsi les vins de garde sont supposés mieux se conserver dans des bouteilles colorées. Les bouteilles incolores sont tout de même utilisées dans un but esthétique car elles permettent de mettre en avant la couleur du vin.

Le verre de la bouteille de vin présente de nombreuses teintes dans un but esthétique et pour protéger les vins. Nous retrouvons principalement trois types de verre : incolore, verts (« vert bouteille ») et marron plus ou moins clair (« feuilles mortes »). Chacune de ces teintes se caractérise par des composés colorants. Le verre est naturellement verdâtre, à cause des ions ferreux ou ferriques (Fe^{2+} et Fe^{3+}). Pour obtenir un verre réellement incolore, il faut donc procéder à sa décoloration. De nos jours les principaux décolorants sont le dioxyde de manganèse (MnO_2) appelé "savon des verriers", les oxydes de titane et d'antimoine. Pour les autres couleurs, les verres sont constitués de composés tels que les mélanges décrits dans le Tableau II-1. En jouant avec des couleurs complémentaires, il est possible de créer des verres incolores et inversement en rajoutant des nuances proches de renforcer la teinte obtenue.

Tableau II-1 : Quelques teintes verrières industrielles

Teinte	Colorants
Verte	Cr_2O_3 + traces de NiO
Verte filtrante	Cr_2O_3 + ambre Fe-S
Feuille morte oxydée	Oxydes de fer + MnO_2
Feuille morte réduite	Cr_2O_3 + trace d'ambre Fe-S

Les verres sodocalciques commerciaux ou anciens contiennent toujours des oxydes métalliques en plus ou moins grande quantité provenant soit des matières premières utilisées soit étant rajoutés intentionnellement. Les oxydes de métaux de transition (Fe, Co, Mn...) sont à l'origine de la coloration des verres.

II.3 Analyse par spectroscopies optiques

Maintenant que nous connaissons les principaux effets de la composition du verre, nous pouvons réaliser une étude par spectroscopies optiques du contenant. Nous commencerons donc par une étude du verre par spectroscopie d'absorption UV-visible, puis par fluorescence et diffusion Raman.

II.3.1 L'absorption UV-visible du verre

Dans la Figure II-4 sont reportés les spectres de transmission UV-visible de plusieurs morceaux de verre extraits de diverses bouteilles de vins du commerce, de couleur et d'épaisseur différentes. Les verres les plus fins font moins de 2 mm d'épaisseur et les verres très sombres peuvent avoir des épaisseurs de plus de 4.5 mm. L'atténuation du rayonnement transmis sera d'autant plus importante que le verre est épais.

Ces verres sodocalciques sont opaques pour des longueurs d'onde supérieures à 2700 nm, soit dans le proche infrarouge, et pour des longueurs d'onde inférieures à 300 nm, soit dans l'ultraviolet. Ces deux coupures expliquent l'utilisation du verre sodocalcique pour filtrer les rayonnements UV (protection des plastiques des voitures) et infrarouges (nécessaire pour les voitures climatisées).

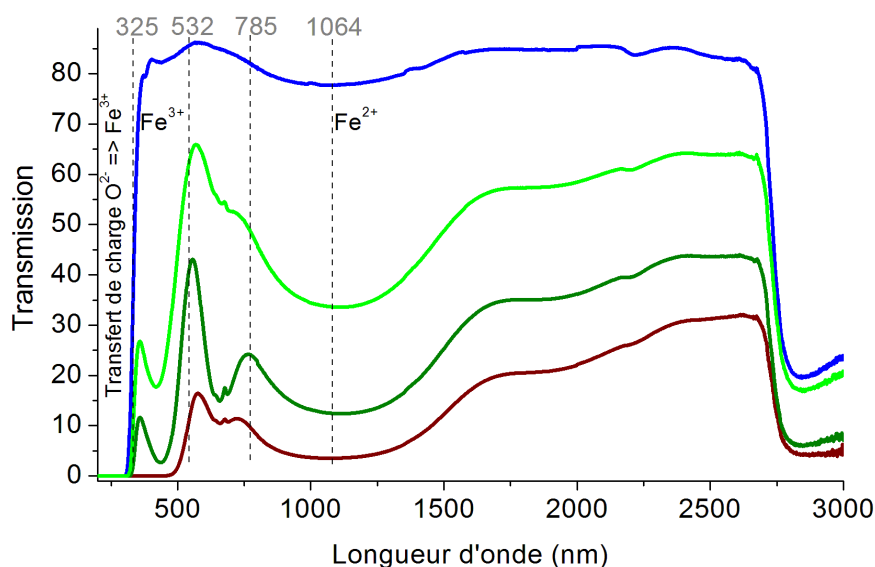


Figure II-4 : Spectres de transmission du rayonnement UV-visible du verre de bouteille de vin commercialisées : en bleu du verre transparent, en vert des bouteilles "vert bouteille", en vert-jaune des bouteilles marron jaunes et en rouge des bouteilles marron-noir.

Nous observons également d'autres zones d'absorption dans la Figure II-4. L'absorption due aux ions Fe^{2+} présents dans le silicate peut s'étendre de 500 à 1500 nm [123]. Elle est visible pour tous les types de verre de bouteille, même pour des verres transparents, et elle donne la couleur verdâtre perceptible à l'œil nu. Les ions Fe^{3+} absorbent quant à eux en dessous de 530 nm. Vers 550 nm est observable une autre zone d'absorption attribuable à d'autres ions métalliques, comme par exemple le chrome Cr^{3+} responsable de la couleur jaune-vert voir marron au verre.

II.3.2 La fluorescence du verre

Le verre absorbe le rayonnement sur une gamme spectrale très étendue, pratiquement à toutes les longueurs d'onde. Ainsi, lors de son excitation par le faisceau d'un laser, il émettra une luminescence pour toutes les longueurs d'onde d'excitation. Dans la Figure II-5 sont reportés les spectres LIF pour une excitation à 532 nm de quatre bouteilles qui se distinguent par leur couleur et leur époque de fabrication.

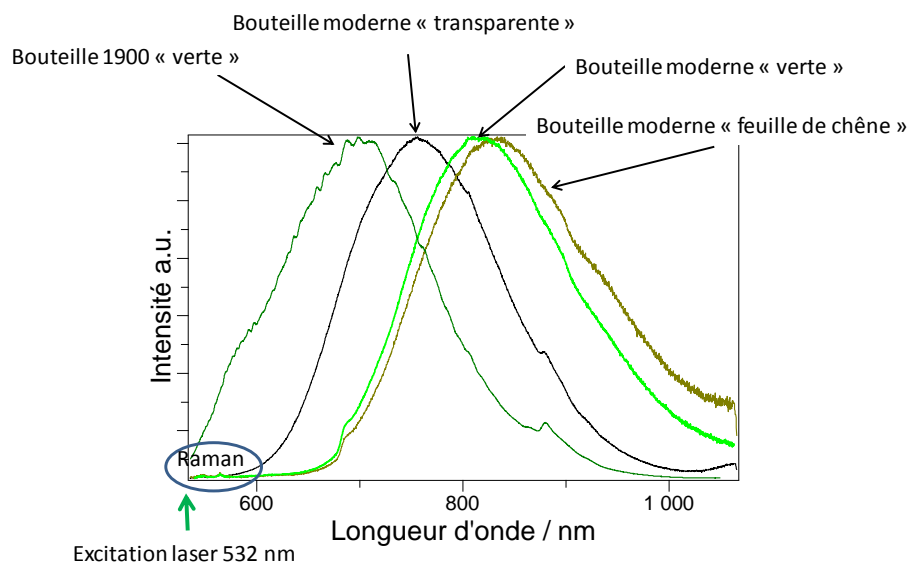


Figure II-5 : Spectres d'émission et de diffusion du rayonnement à 532 nm. Les intensités de spectres ne sont pas absolues, elles ont été normalisées à leur valeur au maximum d'intensité pour rendre la figure plus lisible.

Nous constatons la présence d'une forte émission de fluorescence dont la position du maximum est caractéristique du type de verre étudié. Pour les verres modernes le maximum de fluorescence se situe vers 760 nm pour les bouteilles incolores et respectivement vers 810 et 830 nm pour les bouteilles « vert bouteille » et « feuille morte ». Comme nous pouvions-nous y attendre, la présence en faible quantité des composés métalliques induit des variations dans la position des maxima.

En comparant dans la Figure II-5 deux verres de bouteille de couleur similaire mais fabriqués à deux époques différentes, nous observons une forte variation dans la position du maximum de fluorescence. La bouteille verte des années 1900 présente un maximum de fluorescence vers 700 nm au lieu de 810 nm pour des bouteilles modernes. Cette variation, comme nous pouvions nous y attendre, est due à la composition du verre et au procédé de fabrication très différents selon l'époque. En effet, les bouteilles anciennes étant réalisées manuellement ont vraisemblablement un plus grand nombre d'impuretés.

Nous n'avons trouvé dans la littérature qu'un seul article traitant qualitativement de la fluorescence de verres sodocalciques (verres à boire « artistiques ») pour parvenir à les dater assez précisément [124]. La fluorescence du verre des bouteilles semble manifestement une piste intéressante pour apporter des éléments d'authentification, principalement pour la datation.

II.3.3 La diffusion Raman du verre

La fluorescence observée semble donc être une source d'information intéressante. La diffusion Raman extraite de ces mêmes spectres est également porteuse de renseignements. En effet, les pics Raman des bouteilles récentes sont observables pour une excitation à 532 nm. Dans la Figure II-6 se trouve un spectre Raman typique du verre d'une bouteille récente, après soustraction de la ligne de base due à la fluorescence.

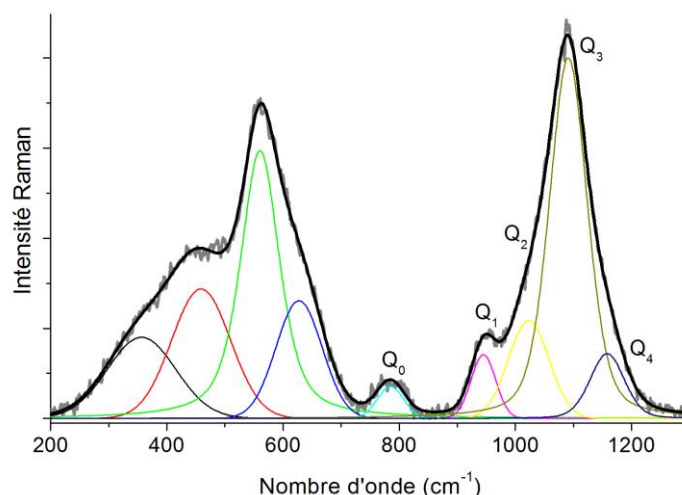


Figure II-6 : Spectre Raman d'une bouteille de vin récente de couleur verte traité de la fluorescence

Le premier massif vers 550 cm^{-1} est dû aux vibrations de déformation des angles Si-O-Si des entités SiO_4 . Il comporte quatre pics vers 355 , 460 , 560 et 625 cm^{-1} . Les deux premiers pics sont attribués aux déformations symétriques et les deux autres aux déformations antisymétriques. Le second massif vers 785 cm^{-1} présente un seul pic qui a pour origine l'élongation des liaisons Si-O du tétraèdre SiO_4 isolé. Le troisième massif centré vers 1050 cm^{-1} a lui aussi quatre pics Raman situés vers 945 , 1025 , 1090 et 1160 cm^{-1} qui sont dus aux vibrations d'élongation des liaisons Si-O du tétraèdre présentant des liaisons pontantes. De nombreux travaux de la littérature [125]–[131] permettent de donner une attribution simple du massif Raman lié aux élongations Si-O, associant ainsi à chaque maximum observé les entités Q^n correspondantes. Les attributions de ces différents domaines sont résumées dans le Tableau II-2.

Tableau II-2 : Attribution des différents domaines de la Figure II-6

modes	Nombre d'onde (cm^{-1}) de SiO_4
élongation symétrique	800-1000
élongation antisymétrique	900-1200
déformation symétrique	400-600
déformation antisymétrique	500-700

Chaque verre de bouteille se caractérise par la position, la largeur à mi-hauteur et l'intensité de ces neuf pics. De nombreuses études ont été réalisées dans le but de corréler la concentration de certains oxydes métalliques aux intensités des raies Raman Q^n . Nous trouvons dans la littérature une étude complète sur une assez grande diversité de verres anciens et récents [131][132]. Ainsi, une proportion importante d'ions Fe^{3+} se traduit par une intensité relative plus importante des raies Raman Q^1 et Q^2 . Les complexes ferrisulfides (Fe^{2+}S), qui vont donner une teinte marron sombre à la bouteille, sont identifiables par une intensité relative plus importante vers 400 cm^{-1} .

Le spectre Raman peut ainsi nous donner des informations sur la composition du verre. Les techniques utilisées pour la fabrication de bouteilles en verre ont évolué au cours du $\text{XX}^{\text{ième}}$ siècle. Nous avons reporté dans Figure II-7 les spectres Raman pour une excitation à 532 nm de bouteilles de diverses époques. Nous constatons des différences entre les spectres d'émission de fluorescence et de diffusion Raman de verres de couleur verte mais datant de différentes époques.

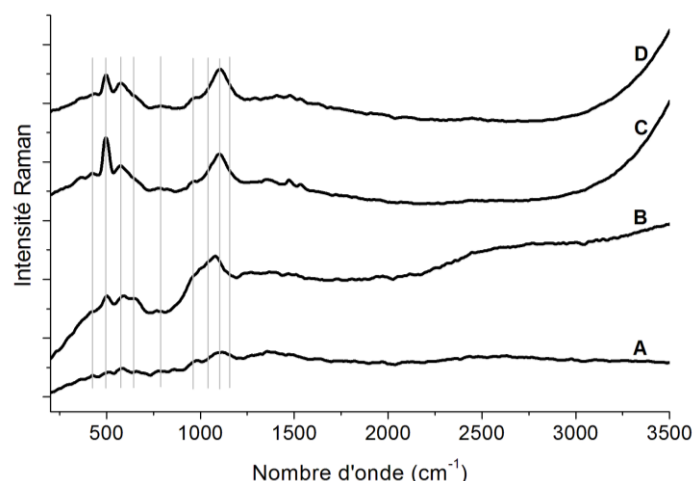


Figure II-7: Spectres Raman du verre de quatre bouteilles vertes de 1925 (A), 1964 (B), 2002 (C) et 2007 (D)

Les bouteilles récentes sont réalisées de façon entièrement industrielle. Leur fabrication est abordée dans l'annexe 3. C'est la raison pour laquelle les spectres Raman des deux bouteilles des années 2000 sont semblables. En effet, nous constatons dans les deux cas une faible fluorescence qui commence vers 3000 cm^{-1} . Nous retrouvons également la présence des différents massifs Raman dus aux elongations et déformations des liaisons Si-O-Si. Le spectre de la bouteille de 2002 présente un pic Raman très intense vers 500 cm^{-1} . L'intensité de ce pic est plus faible dans le cas de la bouteille de 2007, suggérant une concentration en ferrisulfides plus importante pour la bouteille de 2002.

Les différences sont plus marquées pour les spectres du verre de bouteilles plus anciennes. En 1925, les bouteilles sont fabriquées artisanalement par un verrier, en faible quantité et une par une, à partir d'une petite quantité de verre fondu. Le mélange réalisé manuellement présente de nombreuses impuretés entraînant une émission sur tout le domaine d'étude et les pics Raman sont pratiquement entièrement masqués par ce fond de fluorescence. Le début de l'industrialisation de la verrerie date du milieu du XX^{ième} siècle. Cette période est marquée par l'apparition des fours à bassin permettant de préparer une plus grande quantité de verre fondu et de mieux contrôler leur composition, ce qui limite la quantité d'impuretés. Le verre de la bouteille de 1964 est caractéristique de cette période de transition. Nous constatons que le spectre de cette bouteille présente une fluorescence faible sur tout le domaine de mesure, les pics Raman sont bien visibles même si ces massifs sont larges et moins bien définis que dans le cas des verres industriels.

Les informations apportées par la spectroscopie Raman pour l'étude de matériaux vitreux ont déjà été exploitées dans le domaine des objets anciens [18]. Très peu de données bibliographiques existent sur des verres de bouteilles commerciales. La mise en place d'une base de données sur ce type de verre pourrait certainement être utile dans le domaine de l'authentification. Il est très plausible que la spectroscopie Raman ait été exploitée par les grandes entreprises verrières à diverses fins, mais ces données ne sont bien entendu pas disponibles dans la littérature.

La spectroscopie Raman semble permettre de déterminer une date très approximative de fabrication d'une bouteille de vin. Il est peut-être également possible d'identifier l'origine industrielle d'un verre moderne à partir de son spectre Raman. Si cette hypothèse était vérifiée, la spectroscopie Raman serait alors très intéressante pour déterminer l'origine d'une contrefaçon.

II.3.4 Impact du signal transmis à travers du verre

Un objectif important pour les industriels est de détecter des contrefaçons du vin sans ouverture de la bouteille. Il nous faut donc dans un premier temps choisir une longueur d'onde d'excitation laser optimale. Pour nos essais préliminaires, nous nous sommes contentés de mesurer des spectres à 532 et 785 nm où l'absorption du verre est minimale. Nous allons dans un premier temps évaluer l'impact de la teinte des bouteilles sur le signal d'émission lumineuse de la solution mère. Nous montrerons par la suite un exemple de spectres de fluorescence de vins rouges obtenus sans ouvrir les bouteilles.

II.3.4.1 Mesure à travers une bouteille incolore

Les bouteilles incolores (transparentes dans le visible) présentent un spectre de transmission d'intensité pratiquement constante entre 400 et 1000 nm (Figure I-8). Cette bouteille incolore présente une transmission d'environ 80 % lors de la traversée d'une seule épaisseur de verre. Dans nos mesures le faisceau laser traverse une première fois le verre de la bouteille puis est focalisé dans le liquide qu'elle contient. Puis l'émission lumineuse rétro-diffusée traversera à nouveau l'épaisseur du verre et sera donc atténuée. Nous avons reporté dans la Figure II-8 les spectres Raman de la solution mère mesurés à travers le verre d'une bouteille incolore. Les spectres obtenus sont d'excellente qualité, sans fluorescence gênante pour une excitation à 532 nm. En revanche, la luminescence du verre de bouteille déforme le signal Raman vers 1300 cm^{-1} pour une excitation à 785 nm.

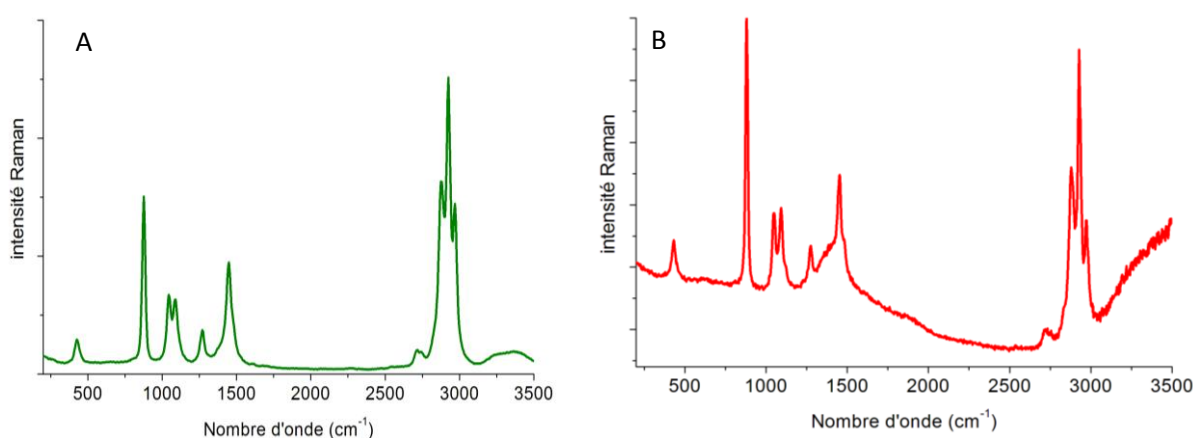


Figure II-8 : Spectre Raman de la solution modèle à travers une bouteille incolore pour une excitation de 532 nm (A) et de 785 nm (B)

II.3.4.2 Mesure à travers une bouteille « vert bouteille »

L'atténuation du rayonnement transmis par les bouteilles vertes est plus importante que celle observée pour des bouteilles incolores. Nous avons reporté dans la Figure II-9 les spectres Raman de la solution mère mesurés à travers le verre d'une bouteille verte.

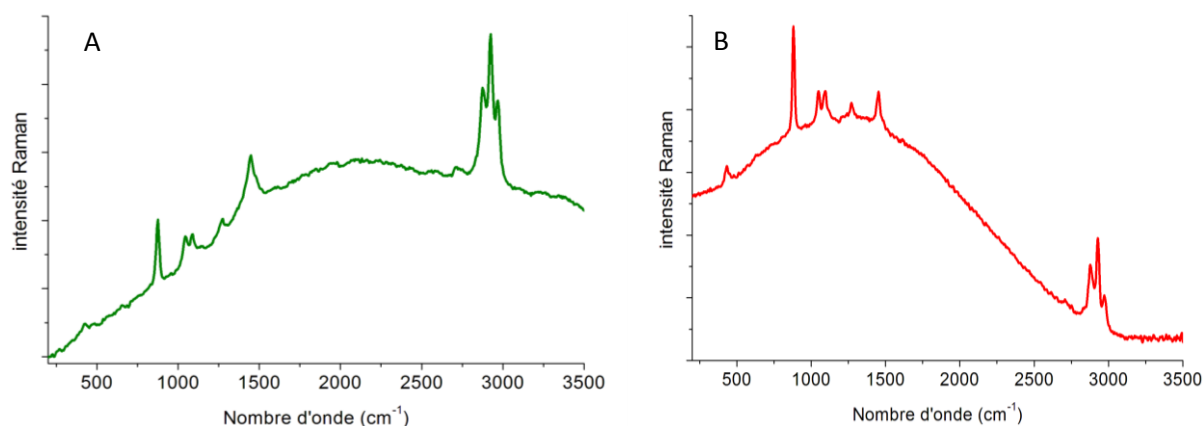


Figure II-9 : Spectre Raman de la solution modèle à travers une bouteille verte pour une excitation de 532 nm (A) et de 785 nm (B)

Pour une excitation de 532 nm (Figure II-9-A), nous constatons bien la présence des pics Raman de l'éthanol entre 850 et 1600 cm^{-1} et autour de 3000 cm^{-1} . Or, le spectre présente également un fond de fluorescence du au verre avec un maximum apparent vers 2000 cm^{-1} . Pour une excitation de 785 nm (Figure II-9-B), l'interaction du verre sur le spectre Raman est importante avec l'apparition d'un fond de fluorescence avec un maximum vers 1200 cm^{-1} . Malgré la luminescence du verre les pics Raman de l'éthanol sont clairement visibles.

II.3.4.3 Mesure à travers une bouteille marron

Comparées aux bouteilles vertes, les bouteilles marron (« feuilles mortes »), souvent plus épaisses que les autres, vont atténuer bien plus fortement le rayonnement transmis. Nous avons reporté dans la Figure II-10 les spectres Raman de la solution mère mesurés à travers le verre d'une bouteille marron. La première observation est que l'on détecte bien un spectre Raman pour une excitation à 532 nm mais que l'atténuation du verre marron est trop importante à 785 nm pour que l'on puisse détecter un signal Raman. La seconde remarque est relative à la fluorescence, similaire pour une excitation à 532 nm à celle observée pour la bouteille verte (Figure blabla) mais très différente à 785 nm.

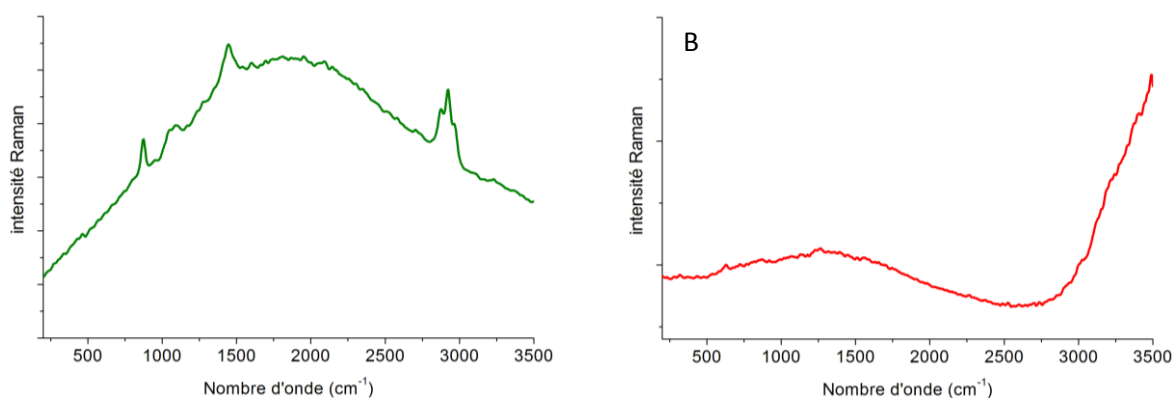


Figure II-10 : Spectre Raman de la solution modèle à travers une bouteille marron pour une excitation de 532 nm (A) et de 785 nm (B)

Le profil du spectre d'émission enregistré dépend de la couleur de la bouteille et de la longueur d'onde d'excitation. Nous voyons bien qu'à priori l'étude de solutions hydro-alcooliques est possible à travers les verres de bouteilles couramment utilisées.

II.3.4.4 La fluorescence du vin rouge mesurée à travers une bouteille verte

Nous allons maintenant brièvement montrer que des spectres de fluorescence de vins rouges peuvent être facilement et rapidement enregistrés à travers le verre d'une bouteille verte pour des longueurs d'onde d'excitation allant de 325 à 785 nm. Bien entendu le signal subira une forte atténuation et le profil du spectre sera déformé comparé à une mesure réalisée hors de la bouteille. Notons que la déformation du profil spectral est aussi due au montage optique utilisé pour réaliser la mesure à travers le verre de la bouteille (voir annexe 3) qui est légèrement différent de celui utilisé pour la mesure à travers un tube RMN. C'est par exemple le cas illustré sur la Figure II-11 où nous comparons les spectres à 325 nm enregistrés pour le même vin à travers la bouteille et à travers un tube RMN.

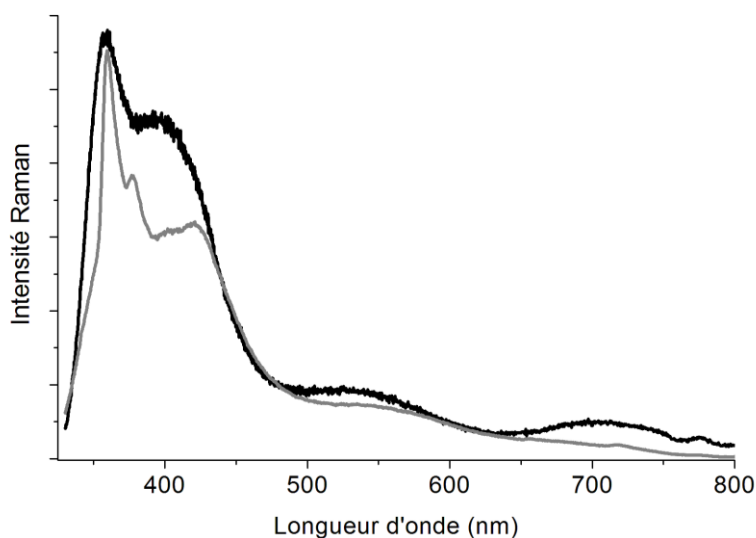


Figure II-11 : Spectre Raman d'un vin rouge dans un tube RMN (gris) et dans une bouteille verte (noir) pour une excitation de 325 nm

Dans le contexte industriel il n'y a pas grand intérêt à essayer de corriger les mesures de la fonction d'appareil. Ce qui importe c'est d'obtenir un signal caractéristique du vin dans sa bouteille, l'ensemble formant la carte d'identité optique du produit. Nous avons reporté dans la Figure II-12 le spectre d'émission de fluorescence d'un vin rouge mesuré à travers la bouteille pour des longueurs d'onde d'excitation de 405 et 532 nm.

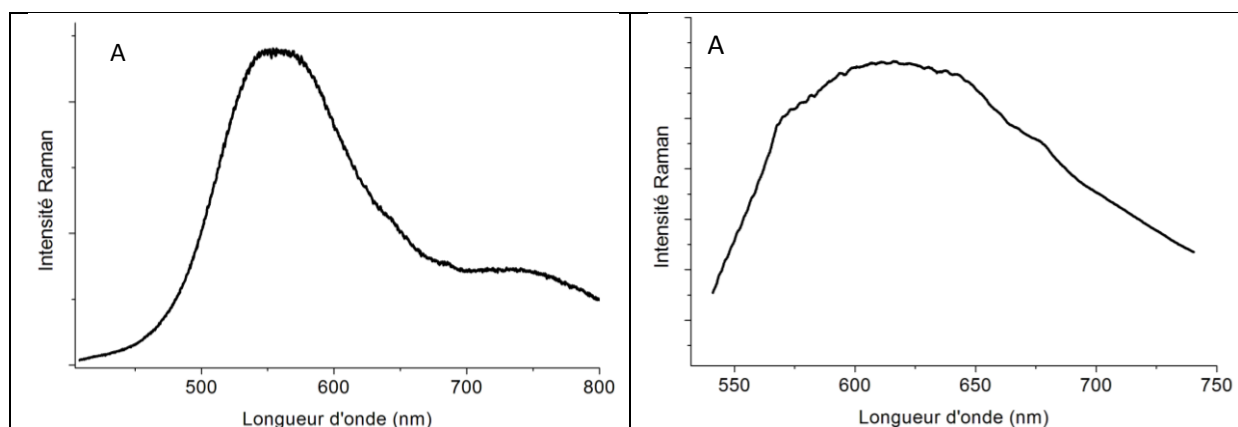


Figure II-12 : Spectre Raman d'un vin rouge dans une bouteille verte pour une excitation à 405 nm (A) et à 532 nm (B)

Nous pouvons donc constater que de telles mesures sont tout à fait réalisables dans le principe, même pour des longueurs d'onde d'excitation (et d'émission) fortement atténuées par le verre de la bouteille. De nombreuses difficultés restent cependant à être surmontées comme par exemple le fait que l'épaisseur d'une bouteille en verre n'est pas constante sur toute sa circonférence (cf. annexe 3).

III Discussion et conclusions

Nous avons montré que l'analyse spectroscopique d'un vin soumis à une excitation laser pouvait fournir des informations sur sa composition qui n'ont été que peu exploitées jusqu'à présent. L'émission de fluorescence donnera des informations « globales » sur les familles de polyphénols et la diffusion Raman permettra d'identifier précisément certaines espèces moléculaires. Nous pouvons alors envisager deux types d'applications, l'une dans les domaines de la traçabilité et de la lutte contre les fraudes et l'autre à des fins analytiques.

Du point de vue de l'analyse chimique, les spectres Raman des vins fournissent des informations précises sur leur composition en sucres, le fructose en particulier, et sur le degré alcoolique via les rapports d'intensités des massifs attribués aux elongations des groupements C-H et O-H entre 2800 et 3600 cm^{-1} . La concentration en polyphénols est faible de sorte que la diffusion Raman « normale » d'un vin sera due essentiellement (à l'exception bien sûr des sucres) aux molécules d'eau et d'éthanol. Pour accéder à des signatures propres à certains polyphénols il faut exalter le signal par effet de résonance électronique. C'est ce que nous avons montré par l'obtention des spectres RR à 325 nm des acides hydroxycinnamiques et de ceux à 532 nm des formes flavylium des anthocyanes. Il serait intéressant dans ce contexte d'explorer d'autres voies permettant d'exalter le signal Raman, la plus évidente étant l'effet dit SERS (« Surface Enhanced Raman Scattering », cf. annexe 1) qui est l'exaltation du signal Raman de molécules adsorbées sur un substrat métallique rugueux (ou nano-structuré). Nous avons donc réalisé deux tests à partir de substrats SERS préparés au laboratoire. Le dépôt métallique est en argent et son spectre d'absorption est large, s'étendant de 400 à 800 nm avec un maximum de la bande plasmon vers 568 nm [133]. L'effet SERS sera donc maximal pour une excitation au voisinage du maximum de la bande plasmon. Nous avons fait un test en versant une goutte de vin sur le substrat SERS et en utilisant pour l'excitation un laser à 532 nm. Pour le vin blanc, nous n'observons aucun spectre exploitable. Pour le vin rouge, en revanche, nous obtenons en quelques secondes un signal Raman très intense avec une puissance laser de quelques dizaines de μW (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**-A). Nous avons reporté sur la **Erreur ! Source renvoi introuvable.**-A les spectres SERS du vin rouge et de la solution modèle de malvidine-3-O-glucoside à pH acide. Manifestement ces deux spectres sont ressemblants avec cependant des différences importantes que nous ne pouvons pas pour l'instant interpréter.

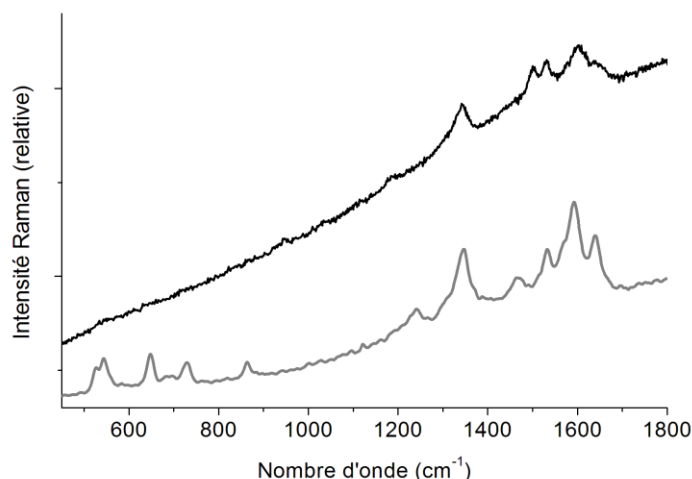


Figure III-1: Spectre SERS du vin rouge et de la solution modèle de malvidine-3-O-glucoside à pH acide pour une excitation de 532 nm.

Notons toutefois que les spectres RR et SERS de la solution modèle de malvidine-3-O-glucoside à pH acide sont pratiquement identiques (Figure III-2). Des interactions spécifiques métal-malvidine sont très vraisemblables.

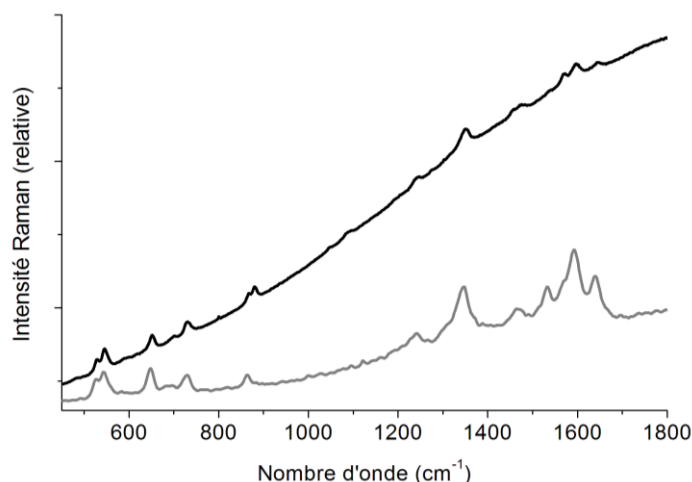


Figure III-2 : spectres RR et SERS de la solution modèle de malvidine-3-O-glucoside à pH acide

Le fait que nous n'observions pas de spectre SERS à 532 nm pour un vin blanc nous amène à suggérer que c'est la combinaison des deux phénomènes, excitation à la fréquence plasmon du métal et résonance électronique de la molécule (on ferait alors du SERRS, « Surface Enhanced Resonance Raman Scattering »), qui permettrait l'obtention d'un signal si fortement exalté pour le vin rouge. Cette méthode est séduisante dans une perspective de chimie analytique et beaucoup reste à faire pour comprendre la nature des informations exploitables, mais elle n'est (pour l'instant peut-être) pas du tout envisageable dans un contexte industriel.

Pour des applications industrielles, la spectroscopie Raman semble être limitée pour l'instant en raison de la faible intensité du signal, ce qui implique des temps d'acquisition des spectres longs et un traitement des données spécifiques pour s'affranchir de la fluorescence. En revanche l'émission de fluorescence est intense et nous avons montré que des spectres de bonne qualité enregistrés en

quelques secondes pouvaient être obtenus. Nous pensons avoir démontré la faisabilité du procédé. Bien entendu beaucoup reste à faire pour rendre cette approche réellement exploitable sur le terrain. Il faut en particulier déterminer les longueurs d'onde d'excitation et les caractéristiques techniques (réseau, détection...) optimales pour discriminer au mieux les vins entre eux. Les résultats présentés tout au long de cette thèse ont été réalisés sur différents spectromètres Raman disponibles dans le groupe GSM de l'ISM. Nous avons créé des portes-échantillons adaptables à tous nos montages, le contrôle de la position de l'échantillon est essentiel pour obtenir une bonne répétabilité et une bonne reproductibilité des différentes mesures. Finalement l'exploitation d'un outil optique dédié à la détection des fraudes repose sur la constitution d'une base de données spectroscopiques des produits originaux. Précisons toutefois que les vins en bouteille évoluent dans le temps. Il en résulte que cette base de données doit être mise à jour chaque année, à la fois pour y intégrer les nouvelles productions et pour suivre l'évolution des anciennes.

Conclusions et perspectives

Les contrefaçons et les fraudes dans le monde du vin se sont fortement développées dans les trois dernières décennies. Il est nécessaire de rechercher des méthodes pour endiguer ce phénomène. Actuellement, les analyses réalisées sont longues et demandent des appareils complexes et chers. Pour sécuriser cette filière, le développement de nouvelles méthodes d'analyses et d'authentifications est essentiel pour limiter les fraudes. Actuellement, les spectroscopies optiques d'émission ne sont que peu utilisées dans l'analyse de ce type de denrées alimentaires. Elles sont pourtant rapides, sûres et simples à mettre en place. Ainsi, il est nécessaire d'en évaluer le potentiel dans le domaine de l'analyse d'expertise et de l'authentification. C'est dans ce contexte que s'inscrit ce travail de thèse.

Cet ouvrage s'est articulé autour de deux axes. Le premier, plus académique, concerne la compréhension de l'origine de ces signaux optiques des vins blancs et rouges (absorption UV-visible, émission de fluorescence et diffusion Raman) et leur attribution à certaines molécules. Le second se rapporte à l'objectif industriel qui est d'établir le potentiel de la spectroscopie Raman dans le but de lutter contre des contrefaçons à travers une nouvelle analyse.

Pour comprendre leur origine et les attribuer de façon fiable, il nous a fallu travailler avec une matrice simplifiée. En effet, le vin est une solution très complexe qui comprend des milliers de composants différents dans des proportions de plusieurs g/L pour les majoritaires et de quelques mg/L pour d'autres. Certains composés sont en tellement faibles proportions qu'ils sont à la limite voir inférieur au seuil de détection des appareils utilisés. L'utilisation d'une solution mère comme solvant est un bon compromis pour étudier certaines molécules comme des acides phénoliques, des sucres, des anthocyanes ou des tanins dans des conditions proches de celles du vin. Chacune de ces familles de composés a des réponses optiques spécifiques.

- Chaque acide hydroxycinnamique présente un Raman de résonance spécifique pour une excitation de 325 nm principalement par la présence d'un doublet vers $1600\text{-}1630\text{ cm}^{-1}$ ce qui permet de les doser de façon rapide.
- Les sucres n'absorbent pas dans notre domaine d'étude, ainsi ils ne présentent ni d'émission de fluorescence, ni de diffusion Raman exalté. Leur forte présence dans les vins sucrés (mi-sec, moelleux ou liquoreux) permet l'observation de pics Raman pour toutes les longueurs d'excitation Raman.
- Les anthocyanes qui sont des composés colorants et fluorophores, présentent des spectres caractéristiques que ce soit en absorption UV-visible, en émission de fluorescence et en diffusion Raman de résonance.
- Les tanins quant-à eux ne sont pas des composés intéressants pour notre étude, car ils ne présentent pas de signatures spécifiques pour les spectroscopies optiques utilisées.

A travers cette étude, nous avons pu mettre en évidence le potentiel de la spectroscopie Raman à travers les données obtenues par émission de fluorescence pour l'analyse du vin et la diffusion Raman. A part l'eau, l'éthanol et les sucres, il est nécessaire d'exalter le signal Raman pour étudier certaines molécules comme les acides hydroxycinnamiques et les anthocyanes.

Une fois toutes ces solutions modèles étudiées, il a été possible de mieux appréhender les buts industriels de cette thèse. D'un point de vue analytique, nous avons constaté qu'il est possible

pour les vins blancs et les vins rouges d'analyser les différents acides hydroxycinnamiques en tant que famille par émission de fluorescence et en tant que molécule par diffusion Raman de résonance pour une excitation de 325 nm. Les vins rouges, présente une fluorescence plus complexe dont certaines bandes observées n'ont pas pu être attribuées par nos solutions modèles. Ainsi pour poursuivre cette étude, il est nécessaire de réaliser des études sur d'autres solutions modèles tels que, par exemple, des solutions de flavanols ou de stilbènes [56] qui semblent être responsables de l'émission de fluorescence observés respectivement vers 360 et 380 nm dans les vins rouges pour une excitation de 325 nm. Nous avons pu également constater les pics Raman de résonance des anthocyanes sont dissimulés par la forte fluorescence du vin rouge.

Comme nous avons pu le constater l'exaltation du signal Raman est nécessaire pour une étude analytique complémentaire aux techniques préexistantes. Nous disposons au laboratoire de substrat SERS d'argent et d'or présentant respectivement des bandes plasmons vers 500 et 700 nm. Ainsi, il semble intéressant d'étudier les réponses Raman obtenus par effet SERS (Surface-Enhanced Raman Spectroscopy) pour nos vins sur un substrat d'argent pour une excitation de 532 nm. Nous ne constatons aucun signal pour les vins blancs, alors que le vin rouge présent un spectre Raman exalté proche de celui observé pour le cation flavylum de malvidine 3-O-glucoside, mais comprenant également des pics supplémentaires. L'utilisation de l'effet SERRS pourrait apporter des informations vibrationnelles supplémentaires au Raman de résonance conventionnel. De nombreux facteurs n'ont pas encore été pris en compte tel que la reproductibilité des mesures, l'implication de substrat de nanostructures contrôlées et les différences entre les spectres obtenus pour différents vins Une étude beaucoup plus poussée est nécessaire pour établir de possible dosage ou authentification dans le domaine du vin rouge par cette méthode d'analyse.

L'étude des vins par spectroscopie Raman a un fort potentiel pour authentification. Les acides hydroxycinnamiques et les anthocyanes permettent de caractériser un vin d'un autre, il semble que d'autres paramètres soit également intéressant. Pour cela, il semble nécessaire de prendre en compte le spectre dans son intégralité et de réaliser des bases de données conséquentes pour réaliser des analyses statistiques pour des distinguer un vin d'autre autre. La spectroscopie Raman permet aussi bien de réaliser des mesures sur les packagings du vin tels que le verre de bouteille, les étiquettes et la capsule que sur le liquide lui-même. Chacun de ces éléments est une source d'information importante pour identifier une possible contrefaçon. La détection d'une anomalie au niveau du packaging est le signe d'une fraude certaine, mais il sera nécessaire de clarifier cette hypothèse par l'analyse du vin. Comme nous avons pu le constater que les mesures par spectroscopie Raman à travers les bouteilles claires sont envisageables pour l'étude de l'émission de fluorescence. Les mesures de diffusion Raman à travers la bouteille sont pour le moment trop contraignantes (temps, focalisation, traitement de spectres ...) pour être déporter hors d'un laboratoire. Les mesures hors contenant sont quant à elle réalisable hors laboratoire pour le domaine analytique.

Références bibliographiques

- [1] P. Ribéreau-Gayon, *Le vin*, 3e édition. Que sais-je?, 1999, p. 128.
- [2] "Arménie : Des archéologues affirment avoir trouvé les restes du plus vieux cerveau humain," *Nouv. d'Arménie*, 2009.
- [3] T. Pellechia, *The 8,000 Years-Old Story of the Wine Trade*. Thunder's Mouth Press, 2006, p. 272.
- [4] P. Scheromm, *Quand le raisin se fait vin*. Quae éditions, 2011, p. 160.
- [5] M. R. Guasch-Jané, C. Andrés-Lacueva, O. Jauregui, and R. Lamuela-Rventos, "First evidence of white wine in ancient Egypt from Tutankhamun's tomb," *J. Archaeological Sci.*, vol. 33, pp. 1075–1080, 2006.
- [6] J.-F. Gauthier, *Histoire du vin*, 2e édition. Que Sais-je?, 1996, p. 128.
- [7] I. S. Pretorius, "Tailoring wine yeast for the new millennium: novel approaches to the ancient art of winemaking.," *Yeast*, vol. 16, no. 8, pp. 675–729, Jun. 2000.
- [8] F. Kennel, "Les nouvelles frontières de la fraude," *Le point*, 06-Sep-2002.
- [9] "Fraude massive aux vins de Bourgogne : un « système organisé » selon la justice," *Le Monde*, 14-Jun-2012.
- [10] C. Bernard, "Un justeux trafic de vin tourne au vignaigre," *Libération*, 18-Dec-2001.
- [11] F. Kennel, "La traque aux faux châteaux," *Le point*, 08-Sep-2011.
- [12] M. Moore, "Empty wine bottles sell for £300 in China," *The telegraph*, 07-Jan-2011.
- [13] C. Arsenault, "Le plus grand faussaire en vins de tous les temps devant ses juges," *RFI*, 18-Dec-2013.
- [14] B. Wallace, *Le plus grand canular de l'histoire du vin*, 1e édition. Three Rivers Press, 2009, p. 323.
- [15] B. Burtschy, "De grand crus qui sonnent faux," *Le Figaro*, 09-Jul-2012.
- [16] G. France, "Bonnes pratiques de mise en œuvre des standards GS1 pour la commercialisation des vins," 2013.
- [17] S. Johansson, J. Campbell, and K. Malmqvist, "Particle-induced X-ray Emission Spectrometry (PIXE)," *X-ray Spectrom.*, vol. 26, no. 1, pp. 49–50, Apr. 1997.
- [18] L. Bellot-Gurlet, F.-X. Le Bourdonnec, G. Poupeau, and S. Dubernet, "Raman micro-spectroscopy of western Mediterranean obsidian glass: one step towards provenance studies?," *J. Raman Spectrosc.*, vol. 35, no. 89, pp. 671–677, Aug. 2004.

- [19] R. Flamini and P. Traldi, *Mass spectrometry in grape and wine chemistry*, Series Edi. Wiley Series on Mass Spectrometry, 2010, p. 366.
- [20] F. Guyon, L. Gaillard, M. Salagoity, and B. Médina, "Détermination des rapports isotopiques des principaux composants des vins par HPLC-CO-IRMS : une voie vers la détermination de constantes d'authenticité," *Bull. l'OIV*, vol. 86, no. 986–88, pp. 181–186, 2013.
- [21] D. N. Sobieski, G. Mulvihill, J. S. Broz, and M. P. Augustine, "Towards rapid throughput NMR studies of full wine bottles," *Solid State Nucl. Magn. Reson.*, vol. 29, no. 1–3, pp. 191–8, Feb. 2006.
- [22] A. J. Weekley, P. Bruins, and M. P. Augustine, "Nondestructive Method of Determining Acetic acid Spoilage in an Unopened Bottle of wine," *Am. J. Enol. Vitic*, vol. 53, no. 4, pp. 318–321, 2002.
- [23] P. Galet, *Dictionnaire Encyclopédique des Cépages*. Hachette pratique, 2000, p. 935.
- [24] G. R. Cramer, A. Ergül, J. Grimplet, R. L. Tillett, E. a R. Tattersall, M. C. Bohlman, D. Vincent, J. Sonderegger, J. Evans, C. Osborne, D. Quilici, K. a Schlauch, D. a Schooley, and J. C. Cushman, "Water and salinity stress in grapevines: early and late changes in transcript and metabolite profiles," *Funct. Integr. Genomics*, vol. 7, no. 2, pp. 111–34, Apr. 2007.
- [25] M. a Vivier and I. S. Pretorius, "Genetically tailored grapevines for the wine industry," *Trends Biotechnol.*, vol. 20, no. 11, pp. 472–8, Nov. 2002.
- [26] P. Galet, *précis de viticulture*, 7e édition. Pierre Galet, 2000, p. 602.
- [27] F. Attia, "Effet du stress hydrique sur le comportement écophysologique et la maturité phénolique de la vigne *Vitis vinifera* L.: étude de cinq cépages autochtones de midi-pyrénées," 2007.
- [28] J. A. Barnett, R. W. Payne, and D. Yarrow, *Yeasts: Characteristics and Identification*, 3e édition. Cambridge University Press, 2000, p. 1150.
- [29] J. Rousseau and D. Delteil, "Présentation d'une méthode d'analyse sensorielle des baies de raisin. Principe, méthode, interprétation," *Rev. Française d'Oenologie*, vol. 183, pp. 10–13, 2000.
- [30] S. P. Robinson, C. Davies, C. P. Industry, P. O. Box, and G. Osmond, "Molecular biology of grape berry ripening," no. Coombe, 1992.
- [31] P. Ribéreau-gayon, Y. Glories, A. Maujean, and D. Dubourdieu, *Traité d'oenologie, Tome 2*, 5e édition. Dunod, 2004, p. 624.
- [32] J. a Rothwell, J. Perez-Jimenez, V. Neveu, A. Medina-Remón, N. M'hiri, P. García-Lobato, C. Manach, C. Knox, R. Eisner, D. S. Wishart, and A. Scalbert, "Phenol-Explorer 3.0: a major update of the Phenol-Explorer database to incorporate data on the effects of food processing on polyphenol content," *Database (Oxford)*, vol. 2013, no. bat070, pp. 1–8, Jan. 2013.

- [33] M. Jourdes, "Réactivité, synthèse, couleur et activité biologique d'ellagitannins c-glycosidiques et flavano-ellagitannins," Université Bordeaux 1, 2003.
- [34] V. Gerbaud, "Détermination de l'état de sursaturation et effet des polysaccharides sur la cristallisation du bitartrate de potassium dans les vins," Institut national polytechnique de Toulouse, 1996.
- [35] S. Vergé, S. Soulet, F. Lacan, and T. Mas, "Les polyphenols du vin : de la chimie pour la vie," *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, vol. 139, pp. 75–90, 1999.
- [36] A. Boutaric, L. Ferre, and M. Roy, "Recherches spectrophotométriques sur la couleur des vins," *Ann. fals Fraud.*, vol. 30, p. 196, 1937.
- [37] OIV, "Méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts," France.
- [38] F. J. Acevedo, J. Jiménez, S. Maldonado, E. Domínguez, and A. Narváez, "Classification of wines produced in specific regions by UV-visible spectroscopy combined with support vector machines," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 55, no. 17, pp. 6842–9, Aug. 2007.
- [39] G. Bain, "Wine Color Analysis using the Evolution Array UV-Visible Spectrophotometer," *Thermo Sci.*, vol. 51852, pp. 1–2.
- [40] Z. G. Cerovic, a. Ounis, a. Cartelat, G. Latouche, Y. Goulas, S. Meyer, and I. Moya, "The use of chlorophyll fluorescence excitation spectra for the non-destructive in situ assessment of UV-absorbing compounds in leaves," *Plant, Cell Environ.*, vol. 25, no. 12, pp. 1663–1676, Dec. 2002.
- [41] S. Biau, "Etude de la matière colorante des vins blancs de Bordeaux," université de Bordeaux II, 1996.
- [42] F. Dijon, B. Ganichot, and N. Constantin, "Sélection et assemblage des cuvées fruitées/corsées," *Guid. la Vinif.*, vol. 9, pp. 42–43, 2005.
- [43] Y. Glories, "La Couleur des Vins Rouges. II. Mesure, Origine et Interprétation," *Connaiss. Vigne Vin*, vol. 18, no. 4, pp. 253–271, 1984.
- [44] D. Cozzolino, H. E. Smyth, and M. Gishen, "Feasibility study on the use of visible and near-infrared spectroscopy together with chemometrics to discriminate between commercial white wines of different varietal origins," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 51, no. 26, pp. 7703–8, Dec. 2003.
- [45] D. Cozzolino, M. J. Kwiatkowski, E. J. Waters, and M. Gishen, "A feasibility study on the use of visible and short wavelengths in the near-infrared region for the non-destructive measurement of wine composition," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 387, no. 6, pp. 2289–2295, Jan. 2007.
- [46] M. Urbano Cuadrado, M. D. Luque de Castro, P. M. Pérez Juan, and M. a Gómez-Nieto, "Comparison and joint use of near infrared spectroscopy and Fourier transform mid infrared spectroscopy for the determination of wine parameters," *Talanta*, vol. 66, no. 1, pp. 218–24, Mar. 2005.

- [47] C.-D. Patz, a Blieke, R. Ristow, and H. Dietrich, "Application of FT-MIR spectrometry in wine analysis," *Anal. Chim. Acta*, vol. 513, no. 1, pp. 81–89, Jun. 2004.
- [48] D. Cozzolino, M. Parker, R. G. Damberg, M. Herderich, and M. Gishen, "Chemometrics and Visible-Near Infrared Spectroscopic Monitoring of Red Wine Fermentation in a Pilot Scale," *Biotechnology Bioeng.*, vol. 95, no. 6, pp. 1101–1107, 2006.
- [49] P. A. Tarantilis, V. E. Troianoub, C. S. Pappas, Y. S. Kotseridis, and M. G. Polissiou, "Differentiation of Greek red wines on the basis of grape variety using attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy," *Food Chem.*, vol. 11, pp. 192–196, 2008.
- [50] A. Edelmann, J. Diewok, K. C. Schuster, and B. Lendl, "Rapid method for the discrimination of red wine cultivars based on mid-infrared spectroscopy of phenolic wine extracts.," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 49, no. 3, pp. 1139–45, Mar. 2001.
- [51] D. Cozzolino, M. Holdstock, R. G. Damberg, W. U. Cynkar, and P. a. Smith, "Mid infrared spectroscopy and multivariate analysis: A tool to discriminate between organic and non-organic wines grown in Australia," *Food Chem.*, vol. 116, no. 3, pp. 761–765, Oct. 2009.
- [52] R. Schindler, R. Vonach, B. Lendl, and R. Kellner, "A rapid automated method for wine analysis based upon sequential injection (SI) -FTIR spectrometry," *Fresenius J Anal Chem*, vol. 362, no. 1, pp. 130–136, 1998.
- [53] J. Tenhunen, K. Sjöholm, K. Pietilä, and S. Home, "Determination of fermentable sugars and nitrogenous compounds in wort by near- and mid-infrared spectroscopy," *J. inst. Brew.*, vol. 100, pp. 11–15, 1994.
- [54] V. Egidio, N. Sinelli, G. Giovanelli, A. Moles, and E. Casiraghi, "NIR and MIR spectroscopy as rapid methods to monitor red wine fermentation," *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 230, no. 6, pp. 947–955, Feb. 2010.
- [55] B. Pettinger, G. Picardi, R. Schuster, and G. Ertl, "Surface-enhanced and STM-tip-enhanced Raman Spectroscopy at Metal Surfaces," *Single Mol.*, vol. 3, no. 5–6, pp. 285–294, 2002.
- [56] D. Airado-Rodríguez, I. Durán-Merás, T. Galeano-Díaz, and J. P. Wold, "Front-face fluorescence spectroscopy: A new tool for control in the wine industry," *J. Food Compos. Anal.*, vol. 24, no. 2, pp. 257–264, Mar. 2011.
- [57] B. Dietzek, D. Cialla, M. Schmitt, and J. Popp, "Introduction to the Fundamentals of Raman Spectroscopy," in *Confocal Raman Microscopy*, 2010, pp. 21–42.
- [58] C. Julien, "Fluorescence et diffusion Raman exalté de surface (SERS) de molécules individuelles," Université Paris XI, 2004.
- [59] C. Delhay, "Spectroscopie Raman et microfluidique : application à la diffusion Raman exaltée de surface," Université de Bordeaux I, 2009.
- [60] S. Burikov, T. Dolenko, S. Patsaeva, Y. Starokurov, and V. Yuzhakov, "Raman and IR spectroscopy research on hydrogen bonding in water-ethanol systems," *Mol. Phys.*, vol. 108, no. 18, pp. 2427–2436, Sep. 2010.

- [61] W. R. Russell, M. J. Burkitt, L. Scobbie, and A. Chesson, "Radical formation and coupling of hydroxycinnamic acids containing 1,2-dihydroxy substituents," *Bioorg. Chem.*, vol. 31, no. 3, pp. 206–215, Jun. 2003.
- [62] M. T. Ribeiro de Lima and J. C. Cabanis, "The phenolic acid content of different varieties and vintages of wines in Continental Portugal and the Azores Islands," *Bull. OIV*, vol. 71, pp. 1013–1027, 1998.
- [63] P.-L. Teissedre and N. Landrault, "Wine phenolics: contribution to dietary intake and bioavailability," *Food Res. Int.*, vol. 33, no. 6, pp. 461–467, Jul. 2000.
- [64] J.-P. Cornard and C. Lapouge, "Absorption spectra of caffeic acid, caffeate and their 1:1 complex with Al(III): density functional theory and time-dependent density functional theory investigations," *J. Phys. Chem. A*, vol. 110, no. 22, pp. 7159–66, Jun. 2006.
- [65] P. Hohenberg and W. Kohn, "Inhomogeneous Electron Gas," *Phys. Rev.*, vol. 136, no. 3B, pp. 864–871, 1964.
- [66] S. Comparison, J. E. Del Bene, W. B. Person, and K. Szczepaniak, "Properties of Hydrogen-Bonded Complexes Obtained from the B3LYP Functional with Experimental Data," pp. 10705–10707, 1995.
- [67] C. Adamo and V. Barone, "Exchange functionals with improved long-range behavior and adiabatic connection methods without adjustable parameters: The mPW and mPW1PW models," *J. Chem. Phys.*, vol. 108, no. 2, p. 664, 1998.
- [68] T. Yanai, D. P. Tew, and N. C. Handy, "A new hybrid exchange–correlation functional using the Coulomb-attenuating method (CAM-B3LYP)," *Chem. Phys. Lett.*, vol. 393, no. 1–3, pp. 51–57, Jul. 2004.
- [69] Y. Zhao and D. G. Truhlar, "The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other function," *Theor. Chem. Acc.*, vol. 120, no. 1–3, pp. 215–241, Jul. 2007.
- [70] S. M. Fiuza, E. Van Besien, N. Milhazes, F. Borges, and M. P. M. Marques, "Conformational analysis of a trihydroxylated derivative of cinnamic acid—a combined Raman spectroscopy and Ab initio study," *J. Mol. Struct.*, vol. 693, no. 1–3, pp. 103–118, May 2004.
- [71] V. R. R. Cunha, V. R. L. Constantino, and R. a. Ando, "Raman spectroscopy and DFT calculations of para-coumaric acid and its deprotonated species," *Vib. Spectrosc.*, vol. 58, pp. 139–145, Jan. 2012.
- [72] J.-P. Cornard and C. Lapouge, "Theoretical and Spectroscopic Investigations of a Complex of Al (III) with Caffeic Acid," *J. Phys. Chem. A*, vol. 108, pp. 4470–4478, 2004.
- [73] M. Mathlouthi and D. V. Luu, "Laser-Raman spectra of D-glucose and sucrose in aqueous solution," *Carbohydr. Res.*, vol. 81, pp. 203–212, 1980.

- [74] P. D. Vasko, J. Blackwell, and K. J.L., "Infrared and Raman spectroscopy of carbohydrates," *Carbohydr. Res.*, vol. 23, pp. 407–416, 1972.
- [75] M. Kačuráková and M. Mathlouthi, "FTIR and laser-Raman spectra of oligosaccharides in water : characterization of the glycosidic bond," *Carbohydr. Res.*, vol. 284, pp. 145–157, 1996.
- [76] P. D. Vasko, J. Blackwell, and J. L. Koenig, "Infrared and Raman spectroscopy of carbohydrates," *Carbohydr. Res.*, vol. 19, pp. 297–310, 1971.
- [77] M. Mathlouthi and D. V. Luu, "Laser-Raman spectra of D-fructose in aqueous solution," *Carbohydr. Res.*, vol. 78, pp. 225–233, 1980.
- [78] M. Mathlouthi, C. Luu, A. M. Meffroy-Biget, and D. V. Luu, "Laser-Raman study of solute-solvent interactions in aqueous solutions of D-fructose, D-glucose, and sucrose," *Carbohydr. Res.*, vol. 81, pp. 213–223, 1980.
- [79] G. Isorez, "Contribution à la chimie des flavonoïdes : Accès à des analogues de pigments du vins rouges," Université Louis Pasteur de Strasbourg, 2007.
- [80] J. B. Harborne, "The comparative biochemistry of phytoalexin induction in plants," *Biochem. Syst. Ecol.*, vol. 27, no. 4, pp. 335–367, Jun. 1999.
- [81] P. C. Stevenson and M. P. Haware, "Maackiain in Cicer bijugum Rech. f. associated with resistance to Botrytis grey mould," *Biochem. Syst. Ecol.*, vol. 27, no. 8, pp. 761–767, Dec. 1999.
- [82] J. B. Harborne and C. a Williams, "Advances in flavonoid research since 1992," *Phytochemistry*, vol. 55, no. 6, pp. 481–504, Nov. 2000.
- [83] J. A. D. S. Emim, A. B. Oliveira, and A. J. Lapa, "Pharmacological Evaluation of the Anti-inflammatory Activity of a Citrus Bioflavonoid, Hesperidin, and the Isoflavonoids, Duartin and Claussequinone, in Rats and Mice," *J. Pharm. Pharmacol.*, vol. 46, no. 2, pp. 118–122, 1994.
- [84] A. Arora, T. M. Byrem, M. G. Nair, and G. M. Strasburg, "Modulation of liposomal membrane fluidity by flavonoids and isoflavonoids.," *Arch. Biochem. Biophys.*, vol. 373, no. 1, pp. 102–9, Jan. 2000.
- [85] N. C. Cook and S. Samman, "Flavonoids - Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources," *Nutr. Biochem.*, vol. 7, no. 2, pp. 66–76, 2006.
- [86] M. Baranska, H. Schulz, E. Joubert, and M. Manley, "In situ flavonoid analysis by FT-Raman spectroscopy: identification, distribution, and quantification of aspalathin in green rooibos (*Aspalathus linearis*).," *Anal. Chem.*, vol. 78, no. 22, pp. 7716–21, Nov. 2006.
- [87] C. Navarre and F. Langlade, *L'oenologie*, 7e ed. 2010.
- [88] M. O. Andersen and K. R. Markham, *Flavonoids. Chemistry, Biochemistry and Applications ; O. M. Andersen & K. R. Markham : CRC Press : Boca Raton*. 2005, p. 1256.
- [89] R. Brouillard, *Anthocyanins as food colors - Chemical structure of anthocyanins*. New York, 1982, pp. 1–40.

- [90] M. Appell, J. L. Willett, and F. a Momany, "DFT study of alpha- and beta-D-mannopyranose at the B3LYP/6-311++G** level," *Carbohydr. Res.*, vol. 340, no. 3, pp. 459–68, Feb. 2005.
- [91] R. E. Asenstorfer, P. G. Iland, M. E. Tate, and G. P. Jones, "Charge equilibria and pKa of malvidin-3-glucoside by electrophoresis," *Anal. Biochem.*, vol. 318, no. 2, pp. 291–299, Jul. 2003.
- [92] A. L. Maçanita, P. F. Moreira, C. Lima, and F. H. Quina, "Proton Transfer in Anthocyanins and Related Flavylum Salts . Determination of Ground-State Rate Constants with Nanosecond Laser Flash Photolysis," pp. 1248–1255, 2002.
- [93] T. Lapidot, S. Harel, B. Akiri, R. Granit, and J. Kanner, "pH-Dependent Forms of Red Wine Anthocyanins as Antioxidants †," pp. 67–70, 1999.
- [94] R. Brouillard, B. Delaporte, J. . El Hage Chahine, and J. E. Dubois, "Chimie des pigments anthocyaniques. 4. spectre d'absorption UV-visible de la forme chalcone de la glucoside-3 Malvidine," *J. Chim. Phys.*, vol. 76, no. 3, pp. 273–276, 1979.
- [95] L. Rustioni, F. Di Meo, M. Guillaume, O. Failla, and P. Trouillas, "Tuning color variation in grape anthocyanins at the molecular scale.," *Food Chem.*, vol. 141, no. 4, pp. 4349–57, Dec. 2013.
- [96] R. Brouillard and B. Delaporte, "Chemistry of anthocyanin pigments. 2. Kinetic and thermodynamic study of proton transfer, hydration, and tautomeric reactions of malvidin 3-glucoside," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 99, no. 26, pp. 8461–8468, Dec. 1977.
- [97] G. Agati, P. Matteini, J. Oliveira, V. De Freitas, and N. Mateus, "Fluorescence Approach for Measuring Anthocyanins and Derived Pigments in Red Wine," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 61, pp. 10156–10162, 2013.
- [98] R. Drabent, B. Pliszka, G. Huszcza-Ciołkowska, and B. Smyk, "Ultraviolet Fluorescence of Cyanidin and Malvidin Glycosides in Aqueous Environment," *Spectrosc. Lett.*, vol. 40, no. 1, pp. 165–182, 2007.
- [99] P. Figueiredo and F. Pina, "Fluorescence spectra and decays of malvidin 3,5-diglucoside in aqueous solutions," *J. Photochem. Photobiol. A Chem.*, vol. 52, no. 3, pp. 411–424, 1990.
- [100] C. Gomez, G. Conejero, L. Torregrosa, V. Cheynier, N. Terrier, and A. Ageorges, "In vivo grapevine anthocyanin transport involves vesicle-mediated trafficking and the contribution of anthoMATE transporters and GST," *Plant J.*, vol. 67, no. 6, pp. 960–970, Sep. 2011.
- [101] F. Poustka, N. G. Irani, A. Feller, Y. Lu, L. Pourcel, K. Frame, and E. Grotewold, "A Trafficking Pathway for Anthocyanins Overlaps with the Endoplasmic Reticulum-to-Vacuole Protein-Sorting Route in Arabidopsis and Contributes to the Formation of Vacuolar Inclusions," *Plant Physiol.*, vol. 145, no. 4, pp. 1323–1335, Jan. 2007.
- [102] J. C. Lima, P. Danesh, P. Figueiredo, F. S. Pina, and A. Maçanita, "Excited States of Anthocyanins: The Chalcone Isomers of Malvidin 3,5-Diglucoside," *Photochem. Photobiol.*, vol. 59, no. 4, pp. 412–418, Apr. 1994.

- [103] J.-C. Merlin, A. Statoua, and R. Brouillard, "Investigation of the in vivo organization of anthocyanins using resonance raman microspectrometry," *Phytochemistry*, vol. 24, no. 7, pp. 1575–1581, 1985.
- [104] F. Pina, M. J. Melo, H. Santos, J. C. Lima, I. Abreu, R. Ballardini, and M. Maestri, "Excited state proton transfer in synthetic flavylium salts: 4-methyl-7-hydroxyflavylium and 4',7-dihydroxyflavylium Example of a four-level molecular device to invert the population of the excited state," *New J. Chem.*, vol. 22, no. 10, pp. 1093–1098, Jan. 1998.
- [105] J.-C. Merlin, A. Statouaa, J.-P. Cornard, M. Saidi-Idrissia, and R. Brouillard, "Resonance Raman spectroscopic studies of anthocyanins and anthocyanidins in aqueous solutions," *Phytochemistry*, vol. 35, no. 1, pp. 227–232, 1993.
- [106] M. Teresa, R. D. E. Lima, M. T. Kelly, M. T. Cabanis, and A. Blaise, "Levels of phenolic acids, catechin and epicatechin in wines of portugal and the azores produced," *J. Int. Sci. Vigne Vin*, vol. 40, no. 1, pp. 47–56, 2006.
- [107] R. C. Minussi, M. Rossi, L. Bologna, L. Cordi, D. Rotilio, G. M. Pastore, and N. Durán, "Phenolic compounds and total antioxidant potential of commercial wines," *Food Chem.*, vol. 82, no. 3, pp. 409–416, Aug. 2003.
- [108] F. Bova, C. Blot, Janvier, and Mazaniello, "Les chiffres de la filière viti-vinicole - données statistiques 200-2010 - FranceAgriMer," 2011.
- [109] D. Airado-Rodríguez, T. Galeano-Díaz, I. Durán-Merás, and J. P. Wold, "Usefulness of fluorescence excitation-emission matrices in combination with PARAFAC, as fingerprints of red wines," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 57, no. 5, pp. 1711–1720, 2009.
- [110] P. Vinas, C. Lopez-erroz, and M. Hernandez-cordoba, "Determination of phenols in wines by liquid chromatography with photodiode array and fluorescence detection," *J. Chromatogr. A*, vol. 871, pp. 85–93, 2000.
- [111] G. D. Smith and R. J. . Clark, "Raman microscopy in archaeological science," *J. Archaeol. Sci.*, vol. 31, no. 8, pp. 1137–1160, Aug. 2004.
- [112] K. Castro, M. Pérez-Alonso, M. D. Rodríguez-Laso, and J. M. Madariaga, "Raman fibre optic approach to artwork dating," *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 60, no. 12, pp. 2919–24, Oct. 2004.
- [113] S. Saverwyns, "Russian avant-garde... or not? A micro-Raman spectroscopy study of six paintings attributed to Liubov Popova," *J. Raman Spectrosc.*, vol. 41, no. 11, pp. 1525–1532, Nov. 2010.
- [114] I. M. Bell, R. J. H. Clark, and P. J. Gibbs, "Raman spectroscopic library of natural and synthetic pigments (pre- ~ 1850 AD)," *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 53, no. 12, pp. 2159–2179, Oct. 1997.

- [115] W. Fremout and S. Saverwyns, "Identification of synthetic organic pigments: the role of a comprehensive digital Raman spectral library," *J. Raman Spectrosc.*, vol. 43, no. 11, pp. 1536–1544, 2012.
- [116] F. Schulte, K.-W. Brzezinka, K. Lutzenberger, H. Stege, and U. Panne, "Raman spectroscopy of synthetic organic pigments used in 20th century works of art," *J. Raman Spectrosc.*, vol. 39, no. 10, pp. 1455–1463, 2008.
- [117] P. Vandenabeele, L. Moens, H. G. M. Edwards, and R. Dams, "Raman spectroscopic database of azo pigments and application to modern art studies," *J. Raman Spectrosc.*, vol. 31, no. 6, pp. 509–517, 2000.
- [118] P. Colomban, "Raman spectrometry, a unique tool to analyze and classify ancient ceramics and glasses," *Appl. Phys. A*, vol. 79, no. 2, pp. 167–170, Jul. 2004.
- [119] P. Colomban, G. March, L. Mazerolles, T. Karmous, N. Ayed, A. Ennabli, and H. Slim, "Raman identification of materials used for jewellery and mosaics in Ifriqiya," *J. Raman Spectrosc.*, vol. 34, no. 3, pp. 205–213, 2003.
- [120] M. Bouchard and D. C. Smith, "Catalogue of 45 reference Raman spectra of minerals concerning research in art history or archaeology, especially on corroded metals and coloured glass," *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 59, no. 10, pp. 2247–2266, Aug. 2003.
- [121] M. Bouchard, D. C. Smith, and C. Carabatos-Nédelec, "An investigation of the feasibility of applying Raman microscopy for exploring stained glass," *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 68, no. 4, pp. 1101–1113, Dec. 2007.
- [122] J. Barton and C. Guillemet, *Le verre : Science et technologie*, 7th ed. 2005, p. 440.
- [123] R. Carl, S. Gerlach, and C. Rüsel, "The effect of composition on UV–vis–NIR spectra of iron doped glasses in the systems Na₂O/MgO/SiO₂ and Na₂O/MgO/Al₂O₃/SiO₂," *J. Non. Cryst. Solids*, vol. 353, no. 3, pp. 244–249, Mar. 2007.
- [124] A. Bertoluzza, S. Cacciari, G. Cristini, C. Fagnano, and A. Tinit, "Non-destructive 'in situ' Raman study of artistic glasses," *J. Raman Spectrosc.*, vol. 26, no. 8–9, pp. 751–755, 1995.
- [125] S. A. Brawer and W. B. White, "Raman spectroscopic investigation of the structure of silicate glasses. I. The binary alkali silicates," *J. Chem. Phys.*, vol. 63, no. 6, pp. 2421–2432, Sep. 2008.
- [126] T. Deschamps, C. Martinet, J. L. Bruneel, and B. Champagnon, "Soda-lime silicate glass under hydrostatic pressure and indentation: a micro-Raman study," *J. Phys. Condens. Matter*, vol. 23, no. 3, p. 035402, Jan. 2011.
- [127] B. Hannoyer, M. Lenglet, J. Dürr, and R. Cortes, "Spectroscopic evidence of octahedral iron (III) in soda-lime silicate glasses," *J. Non. Cryst. Solids*, vol. 151, no. 3, pp. 209–216, Dec. 1992.
- [128] D. W. Matson, S. K. Sharma, and J. A. Philpotts, "The structure of high-silica alkali-silicate glasses. A Raman spectroscopic investigation," *J. Non. Cryst. Solids*, vol. 58, no. 2–3, pp. 323–352, Nov. 1983.

- [129] M. Wang, J. CHeng, M. Li, and F. He, "Raman spectra of soda–lime–silicate glass doped with rare earth," *Phys. B Condens. Matter*, vol. 406, no. 20, pp. 3865–3869, Oct. 2011.
- [130] X. Xue, J. F. Stebbins, M. Kanzaki, P. F. McMillan, and B. T. Poe, "Pressure-induced silicon coordination and tetrahedral structural changes in alkali oxide-silica melts up to 12 GPa: NMR, Raman, and infrared spectroscopy," *Am. Mineral.*, vol. 76, no. 1–2, pp. 8–26, 1991.
- [131] K. Baert, W. Meulebroeck, H. Wouters, P. Cosyns, K. Nys, H. Thienpont, and H. Terryn, "Using Raman spectroscopy as a tool for the detection of iron in glass," *J. Raman Spectrosc.*, vol. 42, no. 9, pp. 1789–1795, Sep. 2011.
- [132] P. Colomban and H. D. Schreiber, "Raman signature modification induced by copper nanoparticles in silicate glass," *J. Raman Spectrosc.*, vol. 36, no. 9, pp. 884–890, Sep. 2005.
- [133] D. Talaga and S. Bonhommeau, "Bare and protected sputtered-noble-metal films for surface-enhanced Raman spectroscopy," *Chem. Phys. Lett.*, vol. 615, pp. 89–93, Nov. 2014.
- [134] M. Moskovits, "Surface-enhanced spectroscopy," *Rev. Mod. Phys.*, vol. 57, no. 3, pp. 783–826, 1985.
- [135] A. Campion and C. Harris, "Surface-enhanced Raman scattering," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 27, pp. 241–250, 1998.
- [136] M. Moskovits, "Surface-enhanced Raman spectroscopy: a brief retrospective," *J. Raman Spectrosc.*, vol. 36, no. 6–7, pp. 485–496, Jun. 2005.
- [137] A. Otto, "The 'chemical' (electronic) contribution to surface-enhanced Raman scattering," *J. Raman Spectrosc.*, vol. 36, no. 6–7, pp. 497–509, Jun. 2005.
- [138] V. Le Nader, "Approche expérimentale et théorique de la diffusion Raman exaltée : résonance des plasmons de surface et effet de pointe," Université de Nantes, 2010.
- [139] G. Pajean, "Fabrication du verre creux," *Une petite Encycl. du verre*, vol. 13, no. 6, pp. 8–13, 2007.

Annexe 1 : Les spectroscopies optiques et les appareils utilisés

Dans cette annexe, nous rappelons rapidement les différents types de spectroscopies optiques abordées durant cette thèse, ainsi que les appareils utilisés avec leurs caractéristiques et les paramètres d'acquisition employés. Nous commencerons par les absorptions UV-visible et infrarouge, puis nous présenterons les spectroscopies d'émissions à travers la fluorescence et la diffusion Raman.

I Principe générale

Il est possible de représenter les différentes transmissions électroniques mises en jeu durant la thèse par le diagramme énergétique de Jablonski (Figure I-1).

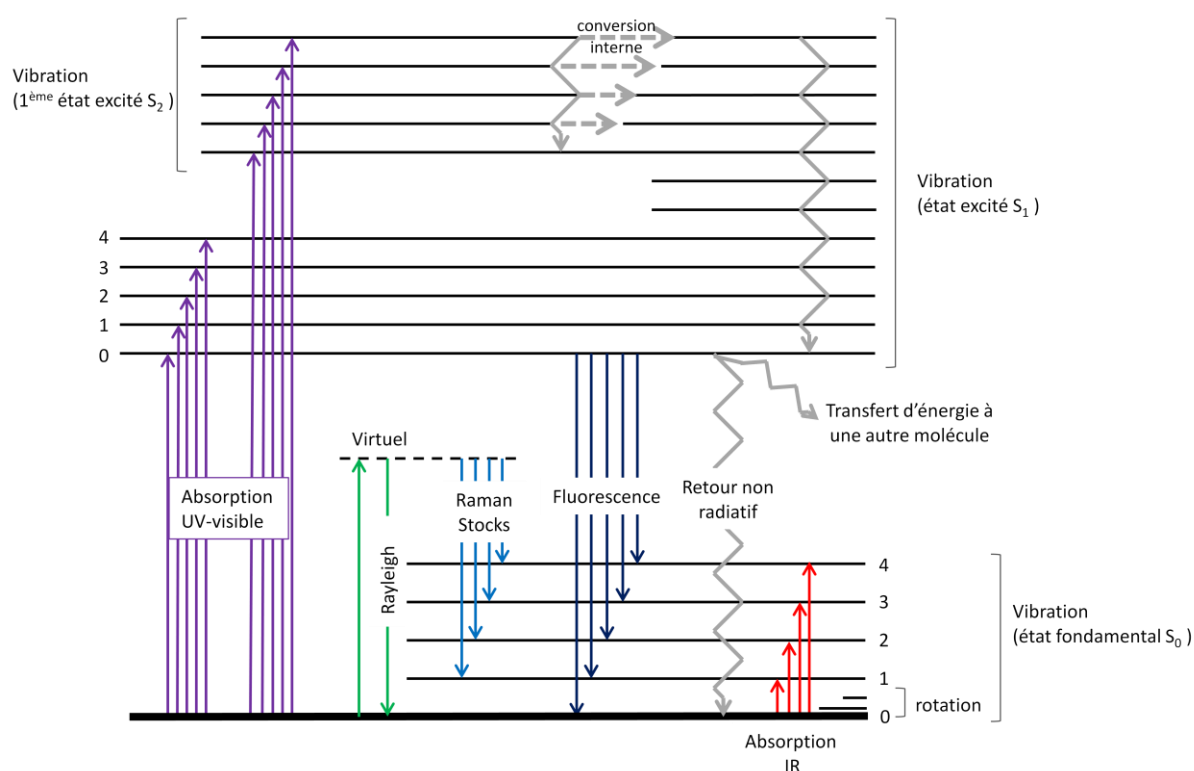


Figure I-1 : Diagramme énergétiques de Jablonski

Durant l'absorption qui dure quelques femto-secondes, l'électron passe de l'état $S_{0,0}$ à un état S_{1-k} ou S_{n-k} . Par conversion interne, cet électron se désexcite par collision et passe à l'état existé $S_{1,0}$ en 10^{-14} à 10^{-10} secondes. Ce processus non radiatif est particulièrement présent dans les milieux liquides où le nombre de voisin est important. Ce phénomène est baptisé absorption UV-visible.

Une fois l'électron au niveau vibrationnel le plus bas du premier état excité singulet, il peut soit se désexcité vers les différents niveaux d'énergie vibrationnelle de l'état fondamental soit par le transfert d'énergie à une autre molécule, soit par un retour non radiatif (transfère de chaleur), soit par l'émission d'un photon en quelques nanosecondes. Ce phénomène de photoluminescence est appelé fluorescence.

II Les spectroscopies d'absorption

II.1 L'absorption UV-visible

L'absorption UV-visible permet de sonder les états électroniques de la matière. Il y a passage d'un photon d'un état à un autre plus excité lors d'excitation par une énergie lumineuse proche de l'écart énergétique mis en jeu.

Le spectromètre utilisé est le UV-visible 650UV de PerkinElmer, c'est spectromètre à un double faisceau et double monochromateur qui permet une configuration spécifique à chaque type d'échantillon. Son montage optique est schématisé dans la Figure II-1. Il dispose de deux sources lumineuses (deutérium et tungstène) permettant de couvrir le domaine allant de 190 à 1000nm, d'une fente qui limite la fenêtre spectrale du faisceau et un système permettant de séparer le faisceau en deux parties pour faire une mesure simultanée de la référence et de l'échantillon qui sont collectés par un détecteur CCD (Charge-Coupled Device). Les caractéristiques de mesures utilisent pendant cette thèse sont listées dans le Tableau II-1.

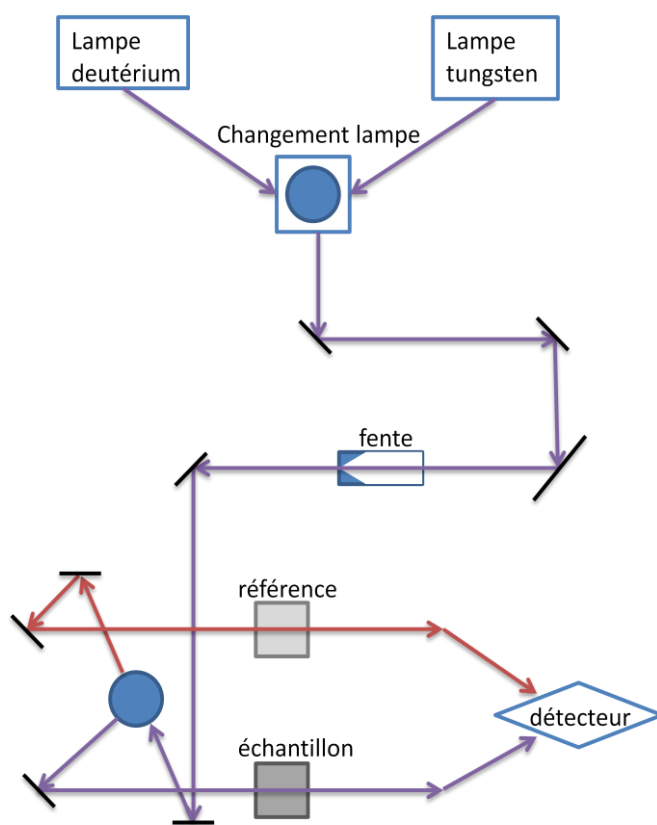


Figure II-1: Représentation du fonctionnement du spectromètre UV-visible 650UV

Au niveau macroscopie, l'échantillon est parcouru par un faisceau lumineux qui perd en intensité suivant la longueur d'onde excitatrice, la nature du milieu, la concentration (noté C en $\text{mol}\cdot\text{cm}^{-3}$), le chemin optique traversé l (en cm) et l'absorptivité molaire du milieu à une longueur d'onde (noté ϵ_λ en $\text{cm}^2\cdot\text{mol}^{-1}$). C'est la loi de Beer-Lambert dont l'équation est : $A_\lambda = \epsilon_\lambda \cdot l \cdot C$.

Tableau II-1 : caractéristique du spectromètre UV-visible 650UV

Paramètre variable	Caractéristique de mesure
Changement de lampe	319.20 nm
Fente	5 nm
Filtre	100%
Type de cellule	Quartz de 1mm de chemin optique
Référence	eau
Début du domaine	800 nm
Fin du domaine	200 nm
Intervalle en scan	1 nm
Nombre de scan	1
Durée d'un scan	0.20 s
Vitesse de scan	266.75 nm/min
Correction	100% Absorption 0% Absorption
Limite de détection	4.5 d'absorbance

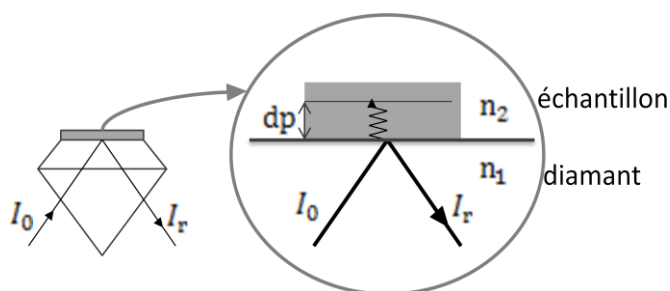
II.2 L'absorption Infrarouge

La spectroscopie vibrationnelle permet d'obtenir des informations sur la nature chimique ainsi que sur la conformation et structurale de la matière sondée. En effet sous l'effet du rayonnement, certains groupements moléculaires vont changer d'état vibrationnels pour des fréquences caractéristiques en fonction de leur environnement proche. Ces transitions peuvent être observées à partir des spectroscopies d'absorption infrarouge et de diffusion Raman. Les interactions rayonnement-matière de ces deux spectroscopies sont différentes entraînant des phénomènes différents. Les spectroscopies d'absorption infrarouge sont réparties en trois domaines :

- le proche (PIR) donne une réponse en spectroscopie vibrationnelle harmonique ou combiné sur le domaine 0,7 à 2,5 μm ,
- le moyen (MIR) est une spectroscopie vibrationnelle fondamentale s'étendant sur le domaine 2,5 à 25 μm ,
- le lointain est une spectroscopie rotationnelle allant de 25 à 1000 μm .

La spectroscopie d'absorption moyenne infrarouge est une spectroscopie vibrationnelle conventionnelle permettant d'observer les bandes dues à des vibrations fondamentales. L'appareil utilisé est le spectromètre « Cary 630FTIR » d'Agilent avec l'accessoire ATR (réflexion total atténuée) permettant un chemin optique de quelques μm dans l'échantillon.

Le principe de l'ATR repose en première approximation sur la réflexion totale à l'interface diamant-échantillon due à des indices de réfraction importants ($n_1 = 2.43$ et $n_2 \approx 1.5$). Ce phénomène est perturbé par l'existence d'une onde progressive transversale appelée évanescente. Celle-ci pénètre de quelques micromètres dans l'échantillon se trouvant en contact direct avec le diamant. Ainsi, une partie de l'énergie lumineuse est retenue et la réflexion totale I_r est dite atténuée.



Il est établi que la profondeur de pénétration (dp) des ondes évanescentes dans l'échantillon dépend de la longueur d'onde λ , de l'angle ϕ d'incidence du faisceau par rapport à la normale à l'intérieur du diamant de 45° et des indices de réfraction du diamant et de l'échantillon, nommés respectivement n_1 et n_2 selon l'équation (3) de Harrick (1979) :

$$dp = \frac{\lambda}{\sqrt{2\pi n_1 \left(\sin^2 \phi - \left(\frac{n_2}{n_1} \right)^2 \right)}} \quad (1)$$

Les spectres sont obtenus en déposant une goutte de vin sur le cristal de diamant, sur le domaine $500\text{--}3800\text{ cm}^{-1}$ avec 20 scans/mesure et une résolution spectrale de 2 cm^{-1} .

Les mesures NIR sont réalisées sur le spectromètre FTIR « Nicolet 6700 » de Thermo Scientific. Les échantillons sont placés dans une cellule de 1 cm de chemin optique et sous atmosphère azotée et dans une pièce à 23 °C. Les mesures sont faites sur le domaine 700 - 2500 nm (soit de 4000 à 14285 cm^{-1}) avec un pas de 4 cm^{-1} et 32 scans/mesure.

III Les spectroscopies d'émission

III.1 L'émission de fluorescence

La fluorescence ou le LIF (fluorescence induite par laser) sont des phénomènes dus à l'excitation de molécule par absorption UV-visible entraînant l'émission d'un photon, comme le montre la Figure I-1. Plusieurs phénomènes peuvent entrer en compétition avec l'émission de fluorescence : la conversion interne ou désactivation par collision des molécules, les transferts inter systèmes et la photo-décomposition des molécules fluorescentes. Ces phénomènes sont conditionnés par de nombreux facteurs comme la température, les effets des substituants et du solvant. Les molécules se relaxent rapidement et peuvent perdre l'excédent d'énergie de manière radiative ou non radiative.

L'appareil utilisé est le SPEX modèle 212 du Fluorolog-2 de Jobin-Yvon dont le fonctionnement optique est représenté dans la Figure III-1. Il dispose de deux monochromateurs permettant de jouer sur les longueurs d'onde d'excitation et d'émission. Pour nos mesures, nous avons choisi la longueur d'excitation et récolté le signal sur une large plage grâce au second monochromateur. Les caractéristiques utilisées pour les mesures sont listés dans le Tableau III-1.

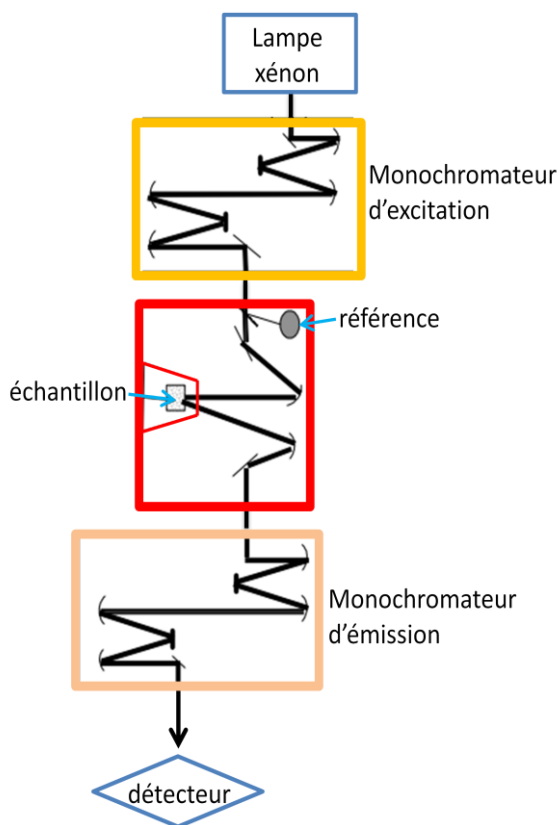


Figure III-1 : Représentation du fonctionnement du Fluorolog-2 Jobin-Yvon

Tableau III-1 : Caractéristique du spectromètre Fluorolog-2 Jobin-Yvon

Caractéristique de mesure	
Source lumineuse	Lampe Xenon de 450 W
Phosphorimétrie	Lampe flash Xenon
Monochromateurs	Double réseau 1200 gr/mm
Excitation : 276 nm	Emission : 285 à 520 nm
Excitation : 290 nm	Emission : 300 à 560 nm
Excitation : 325 nm	Emission : 335 à 640 nm
Excitation : 405 nm	Emission : 415 à 630 nm
Excitation : 532 nm	Emission : 540 à 617 nm
Référence	Rhodamine B
Détecteur	Tube photomultiplicateur allant de l'UV à l'IR
Option refroidissement	Mesure cryogénique (Dewar d'azote liquide)
Intervalle en scan	0.5 nm
Durée d'un scan	0.5 s

Les mesures LIF sont réalisées sur des spectromètres Raman

III.2 La spectroscopie Raman

III.2.1 Principe et caractéristique de mesures

Contrairement aux autres spectroscopies présentées, la spectroscopie Raman est une spectroscopie de diffusion. Nous avons distingué deux cas dans cette thèse : le Raman normal ou classique et le Raman de résonance qui peut avoir lieu pour une excitation où l'échantillon absorbe. Or les mesures de ces diffusions Raman sont réalisées sur les mêmes spectromètres donc le principe optique est schématisé dans la Figure III-2 et les caractéristiques de mesures pour chaque type de mesures sont listés dans le Tableau III-2.

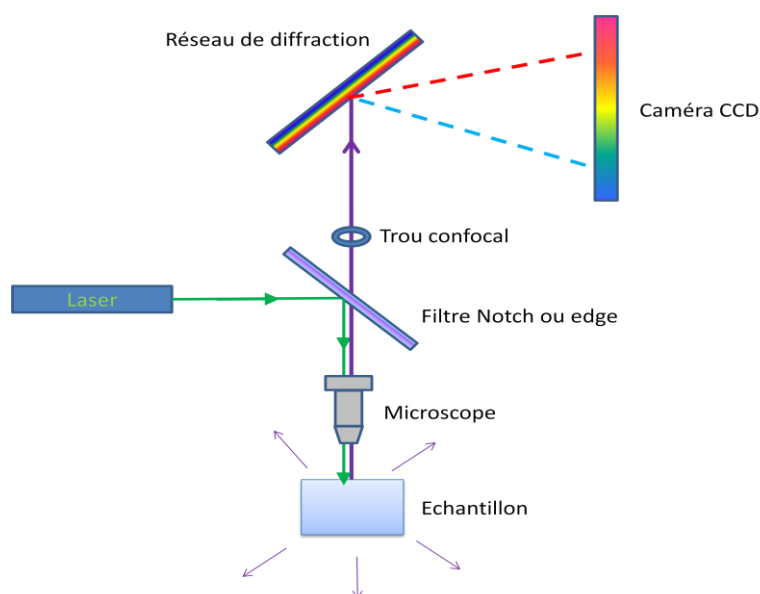


Figure III-2 : Schématisation du fonctionnement optique des spectromètres Raman utilisés

Tableau III-2 : Caractéristique des mesures sur les différents spectromètres Raman utilisés en fonction des longueurs d'onde

	325		405		532	633	785	830
spectromètre								
Réseau	150T	2400T	150T	1800T	1800T	600T	1200T	600T
Type de fenêtre	CREST	CREST	CREST	CREST	multi	CREST	multi	multi
Acqui.	16x1s	80x90s	36x1s	36x15s	64x20s	50x15s	30x60s	30x60s
Domaine	327-900nm	200-3600cm ⁻¹	410-800nm	200-4000cm ⁻¹	200-4000cm ⁻¹	200-4000cm ⁻¹	200-3600cm ⁻¹	200-2000cm ⁻¹

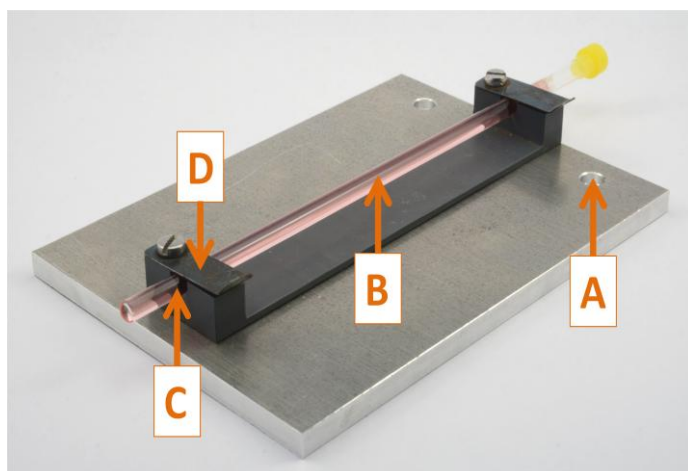
* CREST : Continuous Rapid Extended Scanning Technology

III.2.2 Support

III.2.2.1 Porte-échantillon : tube RMN

Les spectres des solutions modèles et de vins sont réalisés dans des tubes RMN, nous avons donc conçu un porte-échantillon de tube RMN. Ce dispositif (Figure III-3) se décompose en deux parties : une partie grise qui se fixe sur les platines motorisées des spectromètres Raman disponible

au laboratoire et une partie grise qui support l'échantillon. Ce montage permet de réaliser les mesures Raman sans modifier la focalisation du laser, autorise l'ajout de nouvelle source lumineuse ou objectif de collection.



A : trou pour fixer le montage aux platines motorisées des spectromètres Raman disponible au laboratoire.

B : tube RMN : échantillon.

C : encoche pour supporter le tube RMN.

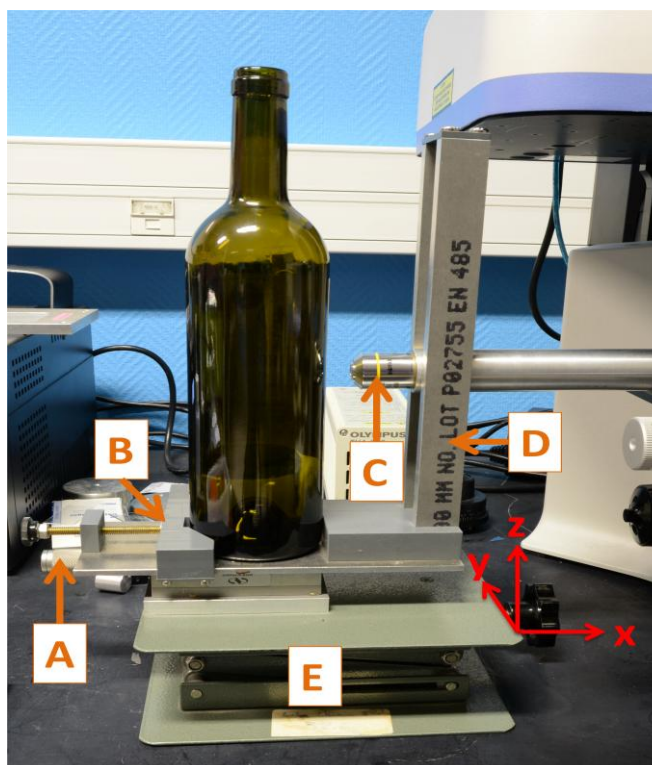
D : lamelles métalliques pour fixer le tube RMN.

Figure III-3 : Schémas et photo du porte-échantillon de tube RMN

Les échantillons sont placés dans des tubes RMN sauf pour le SERRS où une goutte est placée sur un substrat nano-structuré d'argent.

III.2.2.2 Porte-échantillon : bouteille de vin

Les spectres du verre et des pigments sont directement réalisés sur la bouteille. Pour faciliter la reproductibilité des mesures nous avons créé un porte-bouteille. L'objectif de ce dispositif est d'avoir un support stable pour permettre une focalisation reproductible des éléments solides de la bouteille de vin.



A : permet de régler la position en x.

B : support pour fixer la bouteille.

C : objectif.

D : support pour fixer la direction y et ainsi avoir une position constante entre la bouteille et l'objectif.

E : permet de régler la position en z.

Figure III-4 : Schémas et photo du porte-échantillon de bouteille de vin

III.2.3 L'effet SERS

Les mesures SERS (Surface-Enhanced Raman Spectroscopy) ou SERRS (Surface-Enhanced Resonance Raman Spectroscopy) permettent dans certains cas l'amplification de la section efficace de la diffusion Raman des molécules adsorbées sur la surface métallique rugueuse.

L'effet SERS résulte des effets électromagnétiques [134][135][136] et chimiques [136][137] entre la molécule et la surface [59][58] et peut être couplé au RR pour fait de l'effet SERRS en choisissant intelligemment la longueur d'onde d'excitation. Nous entendons par effet électromagnétique, les mécanismes conduisant à l'exaltation des champs électromagnétiques qui se traduisent principalement par deux effets. L'effet de géométrie produit par la composition nano-structuré du support métallique qui induit un effet voisin de celui utilisé en champ proche appelé « effet d'antenne ». En effet, la rugosité nanométrie crée des « points chauds » où l'intensité du champ électrique est localement très intense, produisant une exaltation du signal. Le second effet est dû à une excitation lumineuse proche de fréquence plasmon du métal (mode propre de vibrations des électrons caractéristique du métal utilisé et de sa structure) qui induit un champ électromagnétique. Le plasmon de surface créé sur le substrat dispose de plusieurs voies de désexcitation. Celle impliquée par l'effet SERS est le transfert d'énergie vers les molécules adsorbées. Il en découle une amplification de l'intensité diffusée. L'effet chimique joue un rôle moins intense dans l'exaltation du signal et il est encore mal connu. C'est une interaction de nature chimique entre le substrat et adsorbat qui induit une modification du tenseur de polarisabilité dû à une complexation entre la molécule étudiée et le métal [138]. Les phénomènes physiques et chimiques participant à l'effet SERS sont nombreux et décorrélés dont la contribution n'est pas encore parfaitement établie.

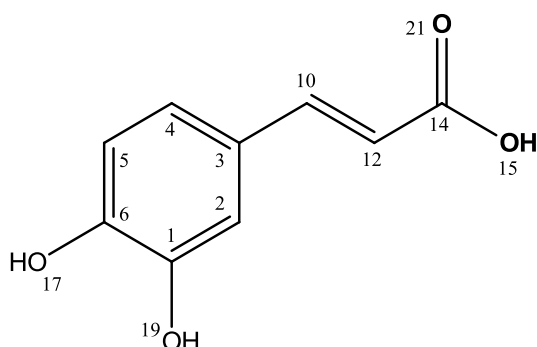
Les substrats utilisés sont réalisés à l'aide du métalliseur Q300T D de Quorum. Il permet le dépôt d'une couche nano-structurée de 10 nm d'argent sur une lamelle de verre. Ces substrats sont à usage unique, s'oxydent rapidement et sont particulièrement réactifs avec les molécules se trouvant dans l'air.

Annexe 2 : Résultat d'optimisation de la géométrie des molécules

Pour chaque molécule, nous retrouvons une figure qui la représente et le tableau des coordonnées internes de chaque atome.

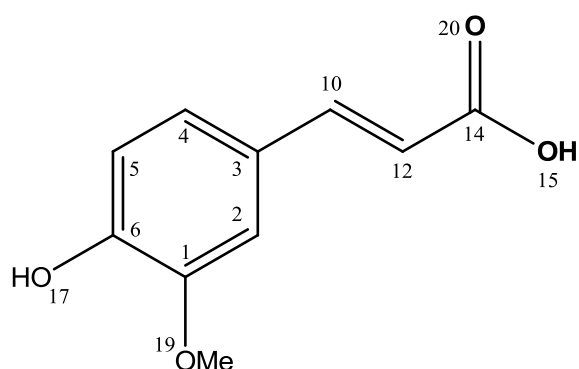
I Acides phénoliques

I.1 Acide caféique



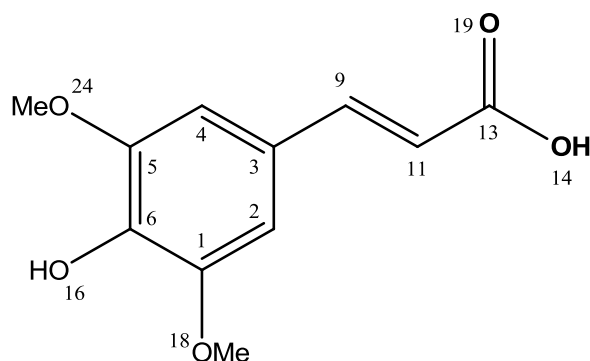
numéro	atome	x	y	z
1	C	2.146143	0.831468	-0.000017
2	C	0.765622	0.770612	-0.000062
3	C	0.105965	-0.476668	-0.000051
4	C	0.885126	-1.645348	0.000001
5	C	2.274904	-1.585094	0.000048
6	C	2.91402	-0.351003	0.000039
7	H	0.200327	1.695707	-0.000108
8	H	0.394905	-2.611932	0.000006
9	H	2.874661	-2.487197	0.00009
10	C	-1.3431	-0.604445	-0.000089
11	H	-1.718934	-1.624575	-0.000117
12	C	-2.261884	0.381963	-0.000102
13	H	-1.99694	1.431737	-0.000067
14	C	-3.693366	0.070932	-0.000171
15	O	-4.448208	1.199876	0.000182
16	H	-5.380888	0.934676	0.000364
17	O	4.270957	-0.288434	0.000083
18	H	4.542253	0.640973	0.000069
19	O	2.879846	1.987843	-0.000024
20	H	2.310182	2.766176	-0.000054
21	O	-4.200864	-1.036794	0.000039

I.2 Acide férulique



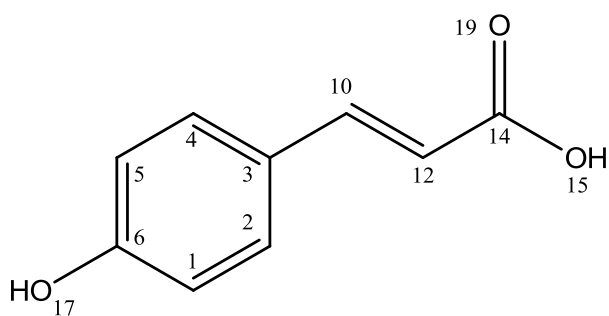
numéro	atome	x	y	z
1	C	-2.01545	0.398175	0.000022
2	C	-0.633741	0.455352	0.000018
3	C	0.128442	-0.735172	-0.000005
4	C	-0.544541	-1.965982	-0.000018
5	C	-1.935655	-2.026655	-0.000013
6	C	-2.676117	-0.853016	0.000006
7	H	-0.137471	1.415892	0.000034
8	H	0.028364	-2.88601	-0.000033
9	H	-2.455463	-2.977084	-0.000024
10	C	1.582478	-0.738427	-0.000018
11	H	2.044036	-1.722804	-0.000012
12	C	2.415312	0.322194	-0.000041
13	H	2.063465	1.345936	-0.000057
14	C	3.867235	0.13278	-0.000049
15	O	4.52497	1.321414	-0.000027
16	H	5.476655	1.135464	0
17	O	-4.032452	-0.901092	0.00001
18	H	-4.368561	0.008139	0.000023
19	O	-2.867012	1.463831	0.000041
20	O	4.466992	-0.928309	0
21	C	-2.319052	2.787458	0.000051
22	H	-1.715524	2.956527	0.895752
23	H	-1.715524	2.956539	-0.895647
24	H	-3.173418	3.4604	0.000056

I.3 Acide sinapique



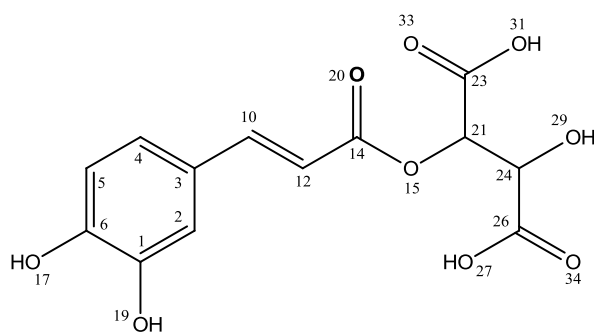
numéro	atome	x	y	z
1	C	1.372063	1.218264	-0.03457
2	C	0.011024	0.969371	-0.008365
3	C	-0.463321	-0.356471	-0.103608
4	C	0.462621	-1.402645	-0.21838
5	C	1.833037	-1.155438	-0.244356
6	C	2.298395	0.158534	-0.159626
7	H	-0.684417	1.791598	0.080228
8	H	0.124868	-2.429608	-0.293687
9	C	-1.879841	-0.689243	-0.084219
10	H	-2.110165	-1.747304	-0.179463
11	C	-2.926225	0.151745	0.03828
12	H	-2.811215	1.223168	0.141824
13	C	-4.299314	-0.358728	0.038238
14	O	-5.203635	0.645133	0.175664
15	H	-6.089599	0.250941	0.170101
16	O	3.628339	0.417622	-0.209902
17	H	3.748407	1.377008	-0.136151
18	O	1.968672	2.442464	0.038617
19	O	-4.647293	-1.521739	-0.06765
20	C	1.144931	3.610218	0.141257
21	H	0.496648	3.703938	-0.733604
22	H	0.542667	3.580131	1.052712
23	H	1.831481	4.452473	0.182207
24	O	2.7091	-2.199547	-0.424597
25	C	3.487966	-2.559027	0.732886
26	H	4.121998	-3.388974	0.424918
27	H	4.108925	-1.723736	1.062385
28	H	2.830919	-2.880572	1.546247

I.4 Acide p-coumarique



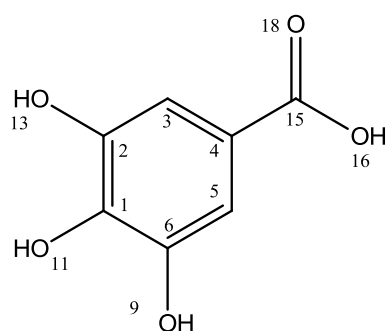
numéro	atome	x	y	z
1	C	-2.297173	-1.235392	-0.000034
2	C	-0.922176	-1.023683	0.000348
3	C	-0.394856	0.275596	0.000259
4	C	-1.281019	1.369988	0.000276
5	C	-2.655099	1.179263	0.00029
6	C	-3.163007	-0.132407	-0.000213
7	H	-0.247415	-1.893733	0.000523
8	H	-0.877752	2.395298	0.000302
9	H	-3.351259	2.02993	0.000212
10	C	1.031013	0.536723	0.000147
11	H	1.318659	1.607871	-0.000072
12	C	1.996242	-0.398281	0.000324
13	H	1.804067	-1.481643	0.000578
14	C	3.406754	-0.015069	-0.000117
15	O	4.270104	-1.074324	-0.000047
16	H	5.182749	-0.742576	-0.000431
17	O	-4.530123	-0.259937	-0.000508
18	H	-4.744864	-1.204618	-0.000691
19	O	3.921627	1.110087	-0.000476
20	H	-2.701125	-2.25757	0.00014

I.5 Acide caftarique



numéro	atome	x	y	z
1	C	-5.043504	-0.676683	0.582597
2	C	-3.672813	-0.511985	0.533772
3	C	-3.091954	0.361163	-0.410352
4	C	-3.938312	1.053698	-1.292171
5	C	-5.318287	0.887365	-1.244843
6	C	-5.879605	0.024119	-0.311062
7	H	-3.053181	-1.062768	1.232199
8	H	-3.508266	1.729628	-2.021996
9	H	-5.970611	1.421153	-1.925218
10	C	-1.657831	0.573609	-0.509984
11	H	-1.344583	1.277846	-1.276533
12	C	-0.683408	0.003367	0.228881
13	H	-0.881287	-0.712716	1.015793
14	C	0.718082	0.335309	-0.011441
15	O	1.533643	-0.374102	0.830463
16	O	-7.226403	-0.139947	-0.262264
17	H	-7.440957	-0.771069	0.440096
18	O	-5.703898	-1.495985	1.458506
19	H	-5.089628	-1.944617	2.051774
20	O	1.166299	1.11636	-0.829403
21	C	2.941894	-0.142386	0.742494
22	H	3.354075	-0.683903	1.597341
23	C	3.259188	1.338769	0.980128
24	C	3.549939	-0.760872	-0.536913
25	H	3.295431	-0.168759	-1.414327
26	C	5.073784	-0.872853	-0.416995
27	O	5.677522	-0.648878	-1.590123
28	H	6.633584	-0.784939	-1.48263
29	O	3.113065	-2.110201	-0.684778
30	H	2.2853	-2.120917	-1.178278
31	O	4.343	1.729979	0.294775
32	H	4.551971	2.650825	0.522787
33	O	2.647425	2.043978	1.741338
34	O	5.652486	-1.184388	0.595777

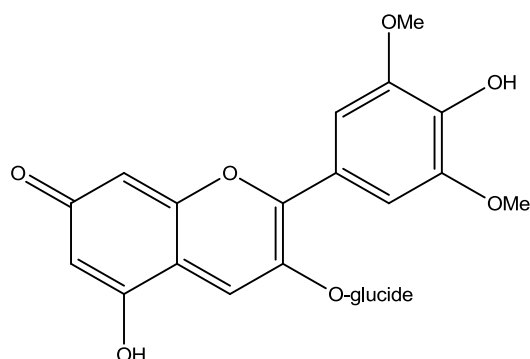
I.6 Acide gallique



numéro	atome	x	y	z
1	C	1.713689	-0.025327	0.000009
2	C	1.030149	1.196049	0.000056
3	C	-0.356407	1.219121	0.000065
4	C	-1.074785	0.015371	0.000031
5	C	-0.391885	-1.206857	-0.000048
6	C	0.999098	-1.226818	-0.00005
7	H	-0.895944	2.157612	0.000102
8	H	-0.890372	-2.169067	-0.000151
9	O	1.656549	-2.418202	-0.000122
10	H	2.607917	-2.244957	-0.000138
11	O	3.072348	-0.100745	-0.000001
12	H	3.437688	0.794904	0.000116
13	O	1.836766	2.298308	0.000051
14	H	1.311468	3.106932	0.000396
15	C	-2.561619	0.125226	0.000002
16	O	-3.288748	-1.015503	0.000275
17	H	-2.730088	-1.802054	0.000698
18	O	-3.150679	1.183148	-0.000379

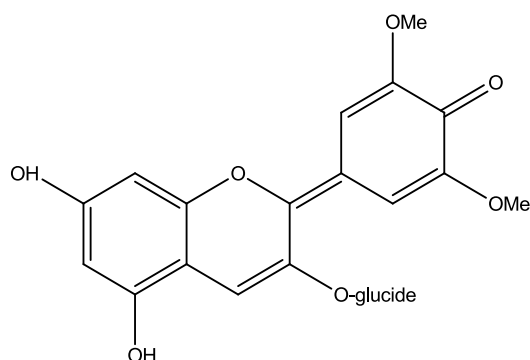
II Malvidine 3-O-glucoside

II.1 AO1



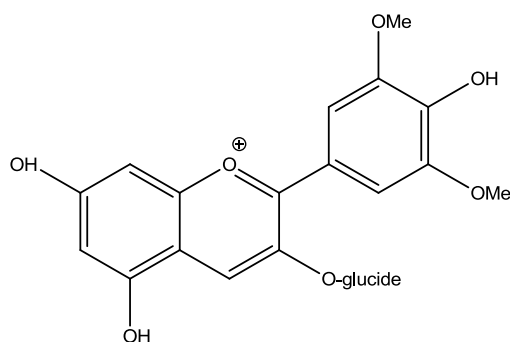
#		x	y	z	#		x	y	z
1	C	3.698363	4.562706	-0.209299	31	C	-0.874938	-4.236359	-1.579229
2	C	3.689224	3.112314	-0.205731	32	H	-1.268887	-5.206495	-1.873073
3	C	2.508526	2.440819	-0.248069	33	H	-1.517896	-3.798287	-0.811368
4	C	1.220203	3.086142	-0.290428	34	H	-0.831769	-3.580835	-2.452918
5	C	1.223672	4.533065	-0.340868	35	O	2.758295	-5.166211	-0.035006
6	C	2.395159	5.220283	-0.291691	36	H	2.014191	-5.66373	-0.406992
7	H	4.630723	2.579723	-0.171977	37	O	-0.931395	0.09922	-0.120619
8	C	0.094635	2.298223	-0.24666	38	C	-2.011607	0.516944	0.733004
9	H	2.383071	6.30317	-0.324891	39	O	-2.84111	1.370272	-0.01685
10	C	0.189174	0.890002	-0.186626	40	H	-1.584319	1.058398	1.581696
11	C	1.429645	0.284617	-0.2161	41	C	-2.694727	-0.788346	1.177643
12	H	-0.900718	2.726292	-0.244242	42	C	-4.267419	1.149671	-0.095958
13	C	1.744679	-1.139744	-0.180731	43	C	-3.515335	-1.292254	-0.017131
14	C	0.844329	-2.105231	-0.67277	44	H	-3.364954	-0.567948	2.013672
15	C	2.988543	-1.54309	0.33713	45	O	-1.753665	-1.70845	1.688267
16	C	1.193984	-3.449016	-0.621284	46	C	-4.684806	-0.330373	-0.238456
17	H	-0.080118	-1.799557	-1.134624	47	H	-4.565144	1.651447	-1.017293
18	C	3.331275	-2.891285	0.390679	48	H	-2.894244	-1.283163	-0.915537
19	H	3.672463	-0.795066	0.706451	49	O	-3.96729	-2.635516	0.098269
20	C	2.427802	-3.855114	-0.08682	50	H	-1.018982	-1.758309	1.061793
21	O	2.536405	1.070247	-0.261334	51	H	-5.447767	-0.53976	0.523219
22	O	4.753215	5.222835	-0.162289	52	O	-5.249743	-0.512201	-1.535127
23	O	0.054983	5.229678	-0.394575	53	H	-4.427173	-2.739135	0.940746
24	H	-0.665295	4.678637	-0.720354	54	H	-5.483337	-1.446293	-1.606473
25	O	4.495531	-3.383943	0.886252	55	C	-4.946218	1.864524	1.073782
26	O	0.437713	-4.492712	-1.066596	56	H	-4.579772	2.896819	1.103931
27	C	5.464597	-2.458807	1.385593	57	H	-4.687055	1.381903	2.024789
28	H	5.068254	-1.886726	2.229514	58	O	-6.349046	1.813699	0.836674
29	H	6.302772	-3.065838	1.720609	59	H	-6.79764	2.156077	1.616277
30	H	5.7999	-1.774817	0.600641					

II.2 AO2



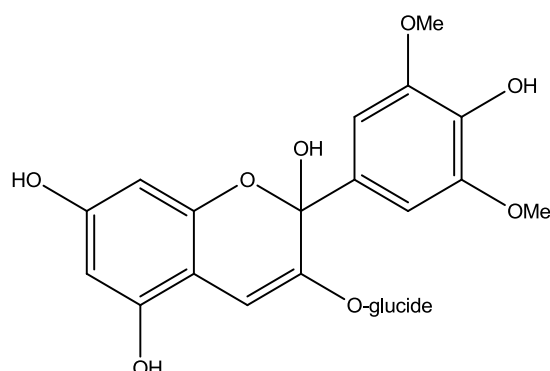
#		x	y	z	#		x	y	z
1	C	-3.280873	4.60956	-0.226997	31	H	-5.842394	-1.297363	1.511301
2	C	-3.442806	3.234844	-0.052075	32	C	0.656722	-4.541438	-0.110659
3	C	-2.301879	2.443035	-0.080469	33	H	1.056123	-5.550346	-0.196411
4	C	-1.015227	2.958384	-0.271133	34	H	0.933698	-3.960278	-0.996005
5	C	-0.890067	4.357601	-0.442818	35	H	1.072932	-4.060349	0.781216
6	C	-2.010551	5.173296	-0.42241	36	O	-3.386663	-5.006609	0.30913
7	H	-4.416923	2.787322	0.0994	37	O	0.906025	-0.200801	-0.039743
8	C	0.083923	2.048808	-0.245909	38	C	2.12972	0.092522	-0.728117
9	H	-1.924702	6.245179	-0.555196	39	O	2.911054	1.042402	-0.05405
10	C	-0.117609	0.70755	-0.09362	40	C	2.861472	-1.241215	-0.901051
11	C	-1.454904	0.174921	0.043255	41	H	1.88947	0.524499	-1.701709
12	H	1.088088	2.437796	-0.321555	42	C	3.763613	0.502839	0.976992
13	C	-1.898278	-1.1499	0.138407	43	C	4.364658	-0.987167	-0.964685
14	C	-1.023056	-2.287859	0.051005	44	H	2.652901	-1.874366	-0.02774
15	C	-3.307277	-1.399498	0.302368	45	O	2.38115	-1.863691	-2.081107
16	C	-1.511718	-3.560509	0.098903	46	H	3.156124	-0.090977	1.667758
17	H	0.030709	-2.119562	-0.07184	47	C	4.858211	-0.411291	0.36356
18	C	-3.80391	-2.667163	0.36576	48	H	4.573261	-0.254292	-1.753137
19	H	-3.971576	-0.553408	0.376458	49	O	4.966109	-2.238817	-1.286685
20	C	-2.940763	-3.854316	0.261818	50	H	3.032327	-2.543472	-2.303141
21	O	-2.466611	1.102466	0.093007	51	H	5.026902	-1.247201	1.052604
22	O	-4.328104	5.471214	-0.220438	52	O	6.085826	0.258235	0.094888
23	H	-5.153087	4.990227	-0.081847	53	H	5.877095	-2.075089	-1.55358
24	O	0.368302	4.831377	-0.622496	54	H	6.420174	0.555606	0.953854
25	H	0.35125	5.79115	-0.719374	55	C	4.332924	1.708891	1.710416
26	O	-5.114995	-2.989049	0.525159	56	H	3.535086	2.217693	2.258706
27	O	-0.756579	-4.690085	0.001673	57	H	4.754745	2.399313	0.97301
28	C	-6.05631	-1.92453	0.639681	58	O	5.344359	1.219466	2.597779
29	H	-6.064534	-1.302209	-0.261174	59	H	5.69558	1.96523	3.095534
30	H	-7.028344	-2.398171	0.762605					

II.3 A+



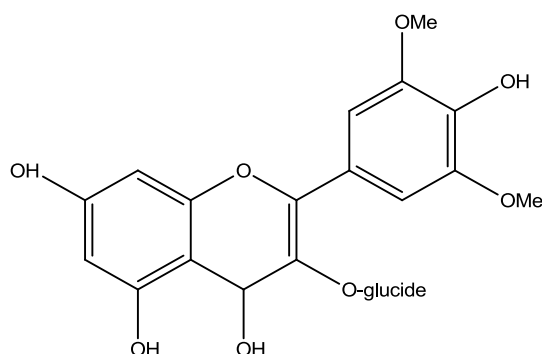
#		x	y	z	#		x	y	z
1	C	2.227934	-0.795778	-0.932928	31	C	-2.592934	-2.113166	-0.154373
2	O	2.702583	-1.818905	-0.114697	32	C	-1.59152	-4.304744	-0.430106
3	C	3.693462	-1.533998	0.909287	33	C	-0.481779	2.251548	-0.51797
4	H	3.383738	-2.140984	1.765376	34	C	-2.699078	1.823413	0.427928
5	C	3.740772	-0.068677	1.357991	35	C	-3.862489	-2.652078	-0.025002
6	C	3.655248	0.94482	0.190341	36	C	-2.844111	-4.863205	-0.30539
7	C	5.05871	-2.060277	0.432612	37	O	-0.462367	-5.013842	-0.621223
8	H	4.912044	-3.053868	-0.00316	38	C	-0.740366	3.609765	-0.433339
9	H	5.485241	-1.413099	-0.335199	39	H	0.448723	1.896407	-0.930344
10	O	6.005393	-2.079925	1.494992	40	C	-2.939898	3.183645	0.530456
11	H	5.757297	-2.781583	2.107393	41	H	-3.447919	1.121333	0.756535
12	C	3.260007	0.2995	-1.136555	42	C	-3.973262	-4.039936	-0.102559
13	H	1.94725	-1.252153	-1.884376	43	H	-4.72181	-2.012426	0.126892
14	H	4.704019	0.070308	1.859203	44	H	-2.987183	-5.935461	-0.358363
15	H	4.144378	-0.189884	-1.56006	45	H	-0.654106	-5.959988	-0.649519
16	H	2.881588	1.664989	0.468215	46	C	-1.954564	4.090424	0.093567
17	O	2.664872	0.246053	2.245041	47	O	0.087102	4.618147	-0.824262
18	H	2.772676	-0.278989	3.04604	48	O	-4.066773	3.750222	1.025036
19	O	4.890645	1.608484	-0.077239	49	O	-5.150876	-4.680058	0.008246
20	H	5.045703	2.260667	0.615041	50	O	-2.184065	5.410684	0.182984
21	O	2.74594	1.244362	-2.061357	51	C	1.358261	4.296525	-1.399153
22	H	3.44401	1.892404	-2.215652	52	C	-5.115573	2.887709	1.47618
23	O	1.049905	-0.157213	-0.387739	53	H	-5.869806	-4.050608	0.149654
24	C	-0.115579	-0.845639	-0.356031	54	H	-1.400791	5.866113	-0.165572
25	C	-0.198782	-2.228647	-0.4371	55	H	1.812845	5.250462	-1.655625
26	C	-1.304327	-0.092433	-0.193808	56	H	1.98631	3.768879	-0.678422
27	C	-1.433074	-2.886959	-0.355561	57	H	1.235874	3.687781	-2.297564
28	H	0.702783	-2.81712	-0.525621	58	H	-4.778871	2.257297	2.304074
29	C	-1.472938	1.338927	-0.086094	59	H	-5.908409	3.547739	1.820331
30	O	-2.46384	-0.766003	-0.086591	60	H	-5.488467	2.261301	0.660839

II.4 AOH1



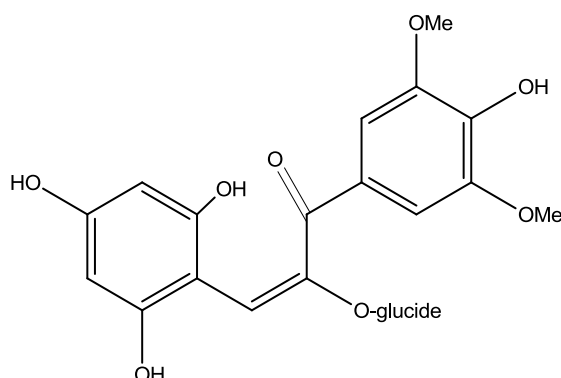
#		x	y	z	#		x	y	z
1	C	1.539576	-0.76826	0.742731	32	C	-3.441211	-0.261249	-0.747505
2	O	2.365048	-0.5253	-0.360687	33	C	-4.395297	-2.235705	0.232916
3	C	2.918889	-1.694974	-0.995622	34	C	0.81417	1.969423	-1.027442
4	H	2.104457	-2.344862	-1.336828	35	C	-0.832855	2.150784	0.740403
5	C	3.775353	-2.456406	0.016756	36	H	-0.596612	0.52259	-2.709599
6	C	2.922556	-2.827833	1.22148	37	C	-4.675609	0.127413	-1.247813
7	C	3.681485	-1.230295	-2.230174	38	C	-5.647485	-1.864473	-0.254489
8	H	4.003225	-2.11447	-2.788124	39	O	-4.344657	-3.39985	0.940614
9	H	2.998107	-0.658099	-2.860087	40	C	1.435415	3.143038	-0.586211
10	O	4.782	-0.372275	-1.939037	41	H	1.239202	1.412958	-1.846688
11	H	5.535208	-0.918651	-1.692309	42	C	-0.219065	3.320587	1.174146
12	C	2.27565	-1.578769	1.821378	43	H	-1.711278	1.771855	1.241563
13	H	1.237864	0.202908	1.12723	44	C	-5.781559	-0.685624	-0.988944
14	H	4.58866	-1.800971	0.358006	45	H	-4.779276	1.043701	-1.813085
15	H	3.065445	-0.943021	2.228515	46	H	-6.500352	-2.503052	-0.056436
16	H	2.136645	-3.520785	0.891209	47	H	-3.439294	-3.604192	1.197689
17	O	4.303369	-3.612534	-0.624534	48	C	0.913751	3.826727	0.517742
18	H	4.709999	-4.148775	0.067146	49	O	2.543058	3.699316	-1.151523
19	O	3.774845	-3.474408	2.164027	50	O	-0.616758	4.092354	2.231071
20	H	3.23665	-3.685797	2.936344	51	O	-6.981261	-0.275977	-1.489508
21	O	1.432026	-1.903019	2.918142	52	O	1.509408	4.972764	0.949449
22	H	0.650179	-2.335747	2.550918	53	C	3.189567	2.990936	-2.213009
23	O	0.385525	-1.542326	0.380793	54	C	-1.743719	3.672706	3.003801
24	C	-0.852993	-1.015217	0.080039	55	H	-7.665707	-0.913569	-1.254338
25	C	-1.920409	-1.73734	0.454141	56	H	1.002813	5.281519	1.71473
26	C	-1.001676	0.192738	-0.844033	57	H	4.044519	3.603682	-2.492769
27	C	-3.259951	-1.436475	-0.002599	58	H	3.536587	2.008097	-1.88248
28	H	-1.726659	-2.608251	1.071815	59	H	2.52859	2.880462	-3.078247
29	C	-0.308766	1.474984	-0.367625	60	H	-1.563636	2.695158	3.45981
30	O	-2.394605	0.595433	-0.936625	61	H	-1.864641	4.422112	3.78288
31	O	-0.562738	-0.234042	-2.108039	62	H	-2.647677	3.63382	2.389584

II.5 AOH2



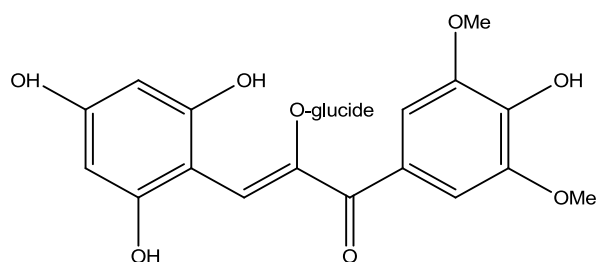
#		x	y	z	#		x	y	z
1	C	-0.523015	-1.948887	-0.987868	32	C	3.48353	0.727503	0.257338
2	O	-1.575909	-1.219601	-1.562954	33	C	4.835452	-1.249615	0.206182
3	C	-2.781699	-1.164543	-0.781683	34	H	1.722318	-3.239734	-0.357239
4	H	-2.571351	-0.679014	0.174926	35	C	-1.139255	1.352459	1.180089
5	C	-3.296542	-2.583493	-0.524683	36	C	-0.053032	2.727114	-0.499438
6	C	-2.216116	-3.434707	0.130816	37	C	4.615135	1.537429	0.200617
7	C	-3.772354	-0.296721	-1.556318	38	C	5.985104	-0.465335	0.15581
8	H	-3.276236	0.635294	-1.832935	39	O	4.97785	-2.601057	0.185277
9	H	-4.067573	-0.813209	-2.48036	40	C	-2.214105	2.24324	1.230303
10	O	-4.902616	0.045929	-0.762843	41	H	-1.12396	0.481438	1.817041
11	H	-5.222462	-0.777519	-0.36647	42	C	-1.127932	3.608755	-0.452213
12	C	-0.952978	-3.399085	-0.727652	43	H	0.786296	2.912035	-1.153754
13	H	0.297331	-1.901729	-1.701114	44	C	5.867052	0.927348	0.163718
14	H	-3.569685	-3.044443	-1.484286	45	H	4.520197	2.614751	0.19
15	H	-1.168601	-3.854788	-1.69921	46	H	6.953484	-0.948204	0.091877
16	H	-1.989142	-3.0263	1.120254	47	H	4.117544	-2.972934	-0.09671
17	O	-4.450032	-2.487597	0.313209	48	C	-2.212854	3.376754	0.405879
18	H	-4.728221	-3.390519	0.51357	49	O	-3.301426	2.114372	2.041487
19	O	-2.73362	-4.762993	0.248341	50	O	-1.259527	4.751744	-1.192293
20	H	-2.386908	-5.15911	1.05405	51	O	6.955339	1.746632	0.116595
21	O	0.131111	-4.089872	-0.096298	52	O	-3.259407	4.246354	0.45194
22	H	0.030884	-5.033773	-0.263118	53	C	-3.35829	0.999411	2.932114
23	O	-0.104496	-1.380862	0.262777	54	C	-0.218295	5.099362	-2.108029
24	C	1.086554	-0.671568	0.268645	55	H	7.760644	1.216358	0.094427
25	C	2.324419	-1.512273	0.417705	56	H	-3.066548	4.951781	-0.182786
26	C	1.096491	0.67294	0.28643	57	H	-4.278991	1.12413	3.498616
27	C	3.556793	-0.663557	0.282622	58	H	-3.398106	0.052896	2.385235
28	O	2.399212	-2.568992	-0.577497	59	H	-2.507055	0.993467	3.619511
29	H	2.297438	-2.009018	1.399588	60	H	-0.091706	4.324631	-2.869373
30	C	-0.065614	1.585432	0.312648	61	H	-0.535711	6.026484	-2.580092
31	O	2.280761	1.387071	0.31393	62	H	0.727499	5.260208	-1.583203

II.6 C1



#		x	y	z	#		x	y	z
1	C	-5.952588	-1.206439	-0.732526	32	C	5.323077	-2.233602	-1.791734
2	C	-4.636068	-1.466618	-1.092101	33	H	6.396506	-2.341377	-1.930369
3	C	-3.534402	-1.021171	-0.31749	34	H	4.814479	-3.115667	-2.189412
4	C	-3.837568	-0.306214	0.871723	35	H	4.969106	-1.334123	-2.302375
5	C	-5.15615	-0.050983	1.243789	36	O	-7.46748	-0.213842	0.861696
6	C	-6.205417	-0.499644	0.447083	37	H	-8.109228	-0.571175	0.236219
7	H	-6.769588	-1.546884	-1.35998	38	O	-4.335461	-2.162805	-2.222462
8	H	-5.356105	0.48987	2.159163	39	H	-5.146051	-2.481375	-2.637241
9	O	-2.884402	0.093899	1.746799	40	O	-0.787904	0.322144	0.056929
10	H	-2.054663	0.317989	1.279447	41	C	-0.887191	1.412219	-0.89447
11	C	-2.208353	-1.473515	-0.708817	42	O	0.112823	1.356985	-1.87208
12	H	-2.189652	-2.410738	-1.253716	43	C	-0.84974	2.740552	-0.117063
13	C	0.235094	-1.723898	-0.893669	44	H	-1.825514	1.300265	-1.44059
14	O	0.198406	-2.488264	-1.853137	45	C	1.466558	1.631834	-1.452373
15	C	-0.985759	-0.94421	-0.512345	46	C	0.555519	3.052188	0.388054
16	C	1.469825	-1.592538	-0.07185	47	H	-1.136335	3.52349	-0.827968
17	C	1.424956	-1.218607	1.279026	48	O	-1.709324	2.753774	1.013451
18	C	2.691019	-1.931477	-0.670682	49	H	1.799681	0.866929	-0.745934
19	C	2.593924	-1.179715	2.038045	50	C	1.538242	2.9977	-0.769715
20	H	0.479613	-0.97061	1.73637	51	C	2.327037	1.542438	-2.713319
21	C	3.858683	-1.854718	0.073901	52	H	0.845358	2.307076	1.139968
22	H	2.700615	-2.234033	-1.707863	53	O	0.622189	4.361597	0.940757
23	C	3.821582	-1.486384	1.429463	54	H	-2.607023	2.959622	0.731079
24	O	2.664521	-0.85238	3.357286	55	H	1.273306	3.781673	-1.492162
25	O	5.121408	-2.116646	-0.378574	56	O	2.883486	3.180723	-0.323217
26	O	4.964515	-1.418362	2.154375	57	H	2.090661	0.611486	-3.231455
27	H	5.693485	-1.636792	1.554064	58	H	2.079537	2.377219	-3.383479
28	C	1.452341	-0.510651	4.031726	59	O	3.715675	1.513612	-2.406106
29	H	0.980227	0.36712	3.580453	60	H	-0.032298	4.403605	1.648525
30	H	0.747878	-1.34789	4.031203	61	H	2.923965	4.028389	0.136253
31	H	1.740578	-0.281083	5.055414	62	H	3.876112	2.234265	-1.779281

II.7 C2



#		x	y	z	#		x	y	z
1	C	-2.874313	-2.584277	-0.973797	32	C	4.815782	-2.541066	-3.103994
2	C	-2.456501	-1.935517	0.209227	33	H	4.118314	-3.38369	-3.111528
3	C	-2.917528	-2.474738	1.431123	34	H	4.398874	-1.712185	-3.683378
4	C	-3.722991	-3.605897	1.492125	35	H	5.763102	-2.849632	-3.540604
5	C	-4.117899	-4.218415	0.301105	36	C	3.121936	0.022102	3.430405
6	C	-3.69671	-3.714301	-0.925348	37	H	2.355194	-0.705987	3.70893
7	H	-4.048668	-4.012066	2.442488	38	H	3.747572	0.239461	4.292893
8	H	-3.989846	-4.182126	-1.857917	39	H	2.654289	0.940368	3.066882
9	C	-1.786316	-0.619871	0.263167	40	O	-0.088717	1.060075	-0.076754
10	H	-2.342262	0.125478	0.821826	41	C	-0.644187	1.971599	0.877923
11	C	-0.59172	-0.220819	-0.205924	42	O	-1.908733	2.452682	0.509935
12	C	0.399373	-1.090581	-0.92357	43	C	0.379259	3.111122	1.003767
13	C	1.804706	-1.109215	-0.479579	44	H	-0.785358	1.453794	1.828992
14	C	2.168037	-0.726515	0.822333	45	C	-1.953017	3.215939	-0.717094
15	C	2.770535	-1.602162	-1.370392	46	C	0.375494	3.983275	-0.25429
16	C	3.495253	-0.837784	1.214304	47	H	0.082659	3.728166	1.854579
17	H	1.417407	-0.394051	1.523251	48	O	1.686557	2.636815	1.301803
18	C	4.103396	-1.695019	-0.98474	49	H	-1.600075	2.58956	-1.544799
19	H	2.454263	-1.902401	-2.358329	50	C	-1.041419	4.433957	-0.57582
20	C	4.470349	-1.310025	0.317823	51	C	-3.409505	3.576275	-0.990603
21	O	-2.533663	-1.814136	2.56265	52	H	0.760931	3.400968	-1.10217
22	H	-2.956901	-2.216787	3.330384	53	O	1.160885	5.157883	-0.071965
23	O	-2.561223	-2.11416	-2.208267	54	H	1.909567	1.965574	0.642003
24	H	-1.629249	-1.797789	-2.191717	55	H	-1.406458	5.04499	0.260284
25	O	-4.912797	-5.320722	0.405906	56	O	-1.096432	5.171408	-1.791673
26	H	-5.120848	-5.653732	-0.475191	57	H	-3.492484	3.903645	-2.030965
27	O	5.121978	-2.134762	-1.767707	58	H	-4.011887	2.674151	-0.866846
28	O	5.76311	-1.401284	0.699261	59	O	-3.938612	4.55326	-0.098128
29	H	5.814519	-1.091635	1.616714	60	H	2.059237	4.87386	0.134998
30	O	4.003418	-0.523432	2.440003	61	H	-0.416515	5.85369	-1.730818
31	O	0.028755	-1.783789	-1.873926	62	H	-3.683679	5.421276	-0.427975

Annexe 3 : Fabrication et épaisseur d'une bouteille de verre

Nous avons pu constater que les méthodes de coloration et décoloration du verre à évoluer au fil des siècles. Ces progrès se retrouvent dans la méthode de fabrication du verre. En effet, le principe de la fabrication du verre existe depuis l'antiquité, mais il a beaucoup évolué au cours du 20^{ème} siècle, par l'industrialisation du procédé.

I Méthodes de fabrication d'une bouteille de verre

Autrefois, le verre était fondu en quantité limitée dans des fours à pots, chaque bouteille était façonnée manuellement par un verrier. L'invention du four à bassin [122] et son évolution a rendu la fabrication automatique avec une production continue et standardisée. Un tel procédé permet d'automatiser la fonte des matières premières, le façonnage de la bouteille et la re-cuisson permettant la suppression des aspérités extérieures de la bouteille¹⁰. La mécanisation du procédé a permis la confection d'un volume important de verre fondu, entraînant une limitation des impuretés et une bonne homogénéité sur un lot.

Il est possible de résumer la formation actuelle d'une bouteille de verre par les Figure I-1 et Figure I-2. La première étape pour réaliser une bouteille de vin est la fonte du mélange vitrifiable. En effet, les différents éléments constituant le verre sont placés dans un four pour subir trois grandes étapes de chauffage : la fusion, l'affinage et la braise dont les propriétés sont résumées dans le Tableau I-1.

Tableau I-1 : Les différentes étapes de fonte du verre et leur but

Etape	Température	réaction	résultat
La fusion	800 à 1400 °C	Dégagement gazeux, bulles	Les matières premières sont fondues
L'affinage	1450 à 1530 °C	Augmentation de la fluidité	Homogénéité
		Remontée des impuretés	Elimination des impuretés en surface
La braise	1530 à 1100 °C	Baisse de la température	Viscosité adaptée au façonnage

La paraison qui est la quantité de verre liquide nécessaire à la fabrication d'un objet, va être extraite à l'aide du plongeur et sectionnée par des ciseaux. La Figure I-1 extraite d'« une petite encyclopédie du verre » [139], schématise les différents éléments mis en jeu pour prélever cette masse de verre pâteux pour le façonnage.

¹⁰ <http://www.infovitrail.com/index.php>

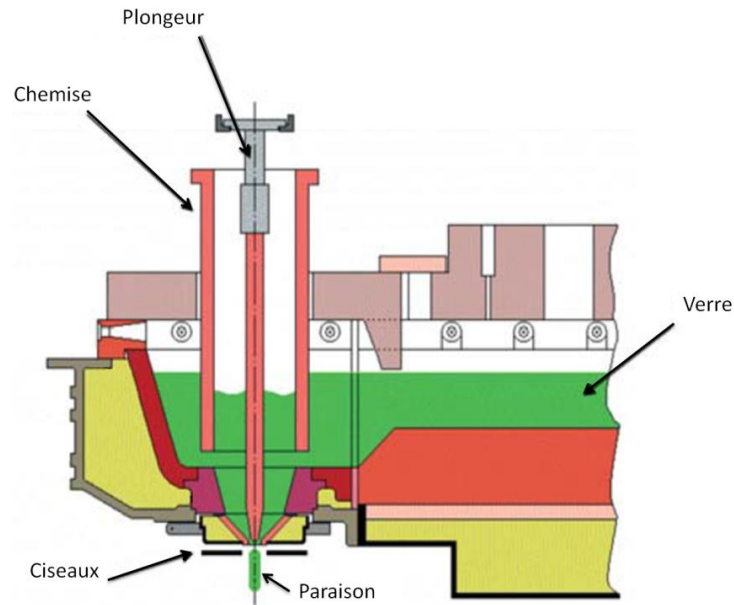


Figure I-1: Formation de la paraison

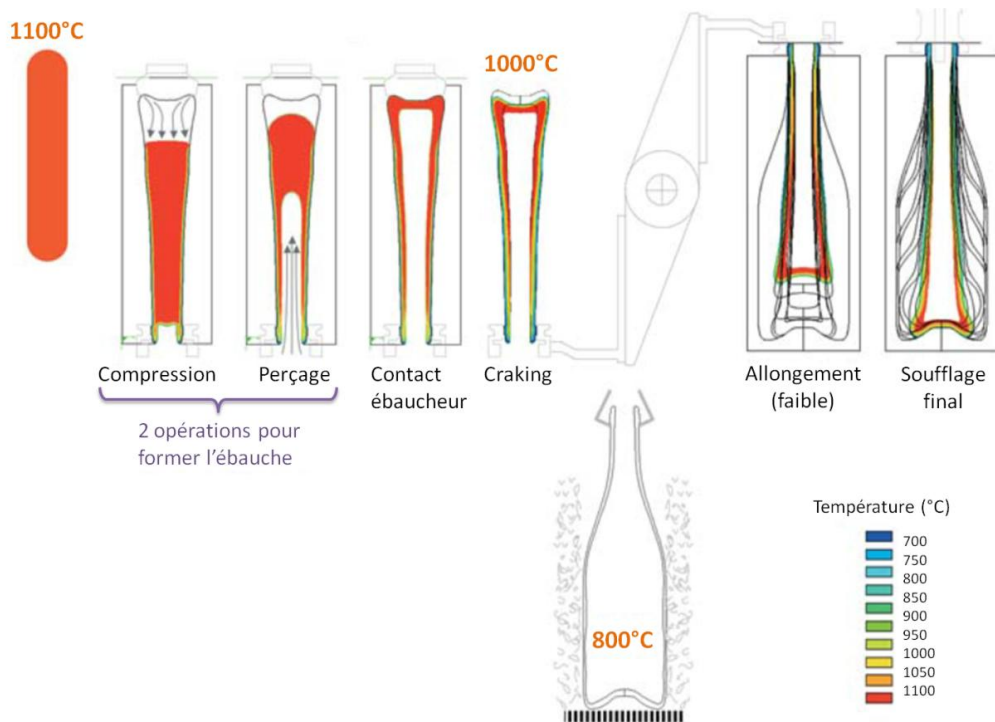


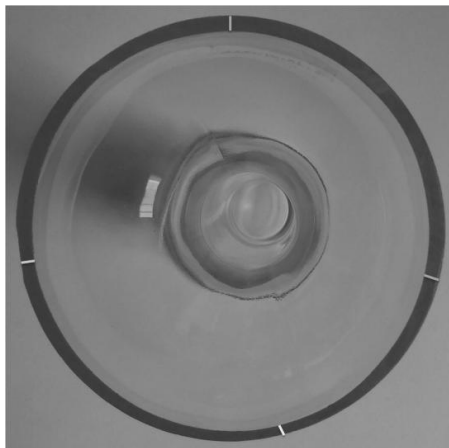
Figure I-2 : méthode soufflé-soufflé pour former les bouteilles

Ce bloc de verre va subir plusieurs étapes pour être transformé en verre de bouteille ; le procédé utilisé est la méthode soufflé-soufflé [139] qui est schématisé dans la Figure I-2. Il est possible de distinguer deux grandes étapes qui correspondent à chaque « soufflé ». Ainsi, la première grande étape a pour but de façonner le goulot de la bouteille. Pour cela, la paraison va glisser dans un moule ébaucheur. Après avoir bouché le fond du moule, le verre est comprimé pour prendre la forme de l'embouchure autour d'un pionçons. Le verre peut enfin être soufflé et prendre tous l'espace vide du moule. Le verre plus fin au niveau du goulot est suffisamment refroidi et donc rigide pour garder cette forme. Le reste de la paraison a également perdu de la chaleur ce qui permet un

changement de moule. La seconde étape permet de donner la forme au reste de la bouteille dans le moule est appelé finisseur. En effet, le verre est de nouveau soufflé pour prendre sa forme définitive.

Cette méthode est utilisée pour les bouteilles de vin car elle présente de nombreux avantages. Elle est rapide, peu couteuse, et permet d'obtenir une couleur du verre homogène et une forme extérieure très bien contrôlée. Mais cette technique n'est pas parfaite. En effet, la répartition d'épaisseur du verre est irrégulière, ce qui peut nous poser problèmes comme par exemple pour la focalisation des mesures réaliser à travers la bouteille.

II Epaisseur de verre de bouteille



Dans la Figure II-1 est photographiée la tranche d'une bouteille transparente. Nous constatons à l'œil nu de forte variation d'épaisseur. En réalisant des mesures au pied à coulisse qui permet une mesure d'épaisseur de 0.02 mm, nous nous rendons réellement compte des variations d'épaisseur d'une bouteille à une hauteur déterminée comme cela est le cas des mesures reportées dans la Figure II-2. Nous observons des variations pour la bouteille transparente de plus 1 mm avec la présence d'un domaine de faible épaisseur. Nous constatons que la valeur moyenne d'épaisseur d'une bouteille à l'autre est différente ainsi la bouteille verte a une épaisseur moyen d'environ 1.9 mm alors que la bouteille transparente d'environ 2,5 mm.

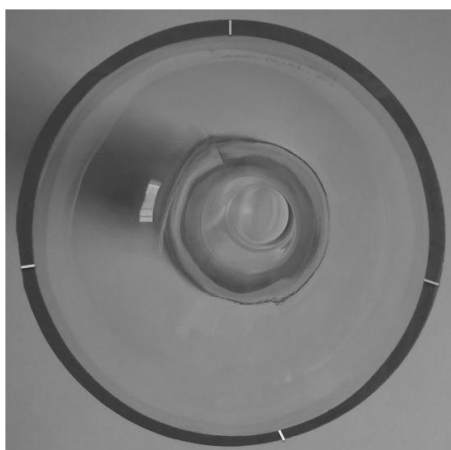


Figure II-1 : photo de tranche d'une bouteille de verre transparente

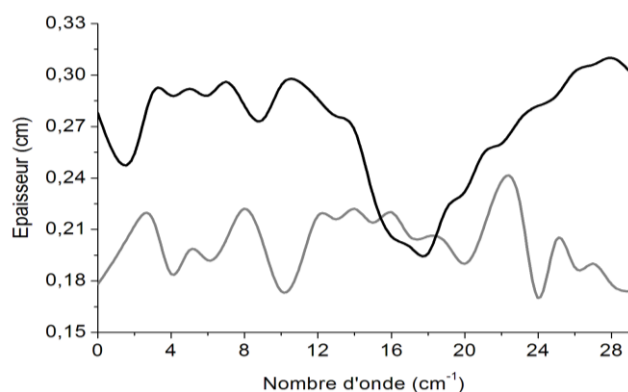


Figure II-2 : épaisseur du verre en fonction de la position sur le tour de la bouteille transparente (noir) et d'une bouteille « vert bouteille » (gris)

Les variations de l'épaisseur de bouteille est problématique pour identifier les spécificités d'un verre et donc pour établir des caractéristiques pour le différencier d'un autre. Ces variations d'épaisseur vont également jouer un rôle sur l'intensité du signal optique récupérer à travers la bouteille.